

## اثر عصاره الکلی ریشه کودزو بر هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

مهدی جهانگیری<sup>۱</sup>، غلامحسین واعظی<sup>۲\*</sup>، ویدا حجتی<sup>۱</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*مسئول مکاتبات: gh.vaezi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۵

### چکیده

دیابت شیرین یک اختلال در سوخت و ساز و سیستم غدد درون‌ریز بدن است. این بیماری در تمام نقاط جهان شایع بوده و به سرعت در حال افزایش است. یکی از آسیب‌های جدی ناشی از دیابت ناتوانی جنسی و کاهش هورمون‌های جنسی می‌باشد، لذا همیشه محققان در صدد یافتن راهی برای کاهش عوارض این بیماری بوده‌اند. استفاده از گیاهان دارویی از دیرباز یکی از مطمئن‌ترین روش‌ها همراه با کمترین عوارض جانبی می‌باشد. کودزو گیاهی نیمه چوبی، چند ساله، تاک مانند و بومی جنوب شرق آسیا می‌باشد که در طب سنتی چین از ریشه خشک شده آن برای درمان تب، اسهال خونی، بیماری‌های قلبی عروقی، فشار خون بالا و دیابت استفاده می‌کنند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر عصاره الکلی ریشه کودزو بر هورمون‌های جنسی رت‌های نر دیابتی بوده است. تعداد ۲۷ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۲۰ تا ۲۳۰ گرم از انستیتو پاستور آمل خریداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه ۹ تایی تقسیم‌بندی شدند. گروه اول یا کنترل (سالم)، گروه شم (دیابتی) که موش‌های دیابتی شده بدون دریافت عصاره بودند و گروه تجربی یا گروه تیمار که دیابتی شده و دریافت کننده عصاره الکلی ریشه کودزو بودند. ابتدا موش‌های گروه شم و تیمار توسط ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. سپس به موش‌های گروه تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریشه کودزو بصورت داخل صفاقی تزریق شد. اندازه‌گیری وزن و حجم بیضه، سنجش گلوکز خون و هورمون‌های انسولین، تستوسترون، FSH و LH انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد، تجویز عصاره الکلی کودزو در موش‌های صحرایی نر دیابتی سبب کاهش قند خون و افزایش نسبی هورمون‌های انسولین، تستوسترون، FSH و LH در موش‌های دیابتی نر می‌شود.

کلمات کلیدی: دیابت، ریشه کودزو، رت ویستار، استرپتوزوتوسین.

### مقدمه

انسولین منجر شود [۴۲]. در دیابت نوع دو مشخص است که عوامل ژنتیکی، چاقی و کم‌تحرکی نقش مهمی در ابتلای فرد دارند. در دیابت، سرعت و توانایی بدن در استفاده و سوخت و ساز کامل گلوکز کاهش می‌یابد از این رو میزان قند خون افزایش یافته که به آن هایپرگلیسمی می‌گویند. وقتی این افزایش قند در دراز مدت در بدن وجود داشته باشد تخریب رگ‌های بسیار ریز در بدن ایجاد می‌شوند که می‌توانند اعضای مختلف بدن همچون کلیه، چشم و اعصاب را درگیر کنند. همچنین دیابت با

دیابت شیرین یا بیماری قند (Diabetes Mellitus)، یک اختلال متابولیک در بدن است که توانایی تولید انسولین در بدن از بین می‌رود و یا بدن در برابر انسولین مقاوم شده و بنابراین انسولین تولیدی نمی‌تواند عملکرد طبیعی خود را انجام دهد. دیابت دو نوع اصلی دارد. در دیابت نوع یک تخریب سلول‌های بتای پانکراس منجر به نقص تولید انسولین می‌شود و در نوع دو مقاومت پیشرونده بدن به انسولین وجود دارد که در نهایت ممکن است به تخریب سلول‌های بتای پانکراس و نقص کامل تولید



شناسی این سه گونه خیلی مشابه است اما اندازه گل و میوه آنها می‌تواند آنها را از هم متمایز کند [۳۳، ۷۱]. کودزو یک گیاه بالارونده و دائمی است و دارای حالت نیمه چوبی با ساقه‌های قهوه‌ای و کرک‌دار است. ریشه آن گوشت آلود با انشعابات به طول ۲۰ متر و قطری حدود ۱۸ تا ۴۵ سانتی‌متر بوده و تا عمق حدود ۱ تا ۵ متر می‌توانند نفوذ کنند [۲۷]. برگ‌های آن در طول ساقه به طور متناوب مرتب شده و سه کاسبرگ دارند [۱۲]. گل‌های آن شبیه نخود صورتی مایل به ارغوانی با رنگ زرد در وسط است. خوشه‌ها شبیه به انگور آویزان می‌شوند. ریشه این گیاه به عنوان دارو در معابد قدیمی چین برای درمان تب، اسهال و اسفراغ استفاده می‌شد [۲۸، ۵۱]. طبیعت کودزو سرد و مزه ای شیرین دارد و مورد مصرف آن در شادابی کبد، قطع اسهال و اسهال خونی، تشنگی، کاهش قند، فشار و چربی خون، رفع تشنگی، تقویت تولید مایعات بدن، ضد تب، ضد تعرق، ضد الکل و درمان گرفتگی گردن است [۱۶، ۳۴، ۳۵، ۴۷، ۴۹، ۵۹]. اخیراً در ژاپن از ریشه کودزو برای درمان اختلالات قاعدگی استفاده می‌شود [۶۳]. مطالعات اخیر نشان داده که عصاره آبی و الکلی گل‌های کودزو دارای اثر آنتی‌اکسیدانی در محافظت سلول‌های کبدی، خواص استروژنی، ضد جنون و ضد سرطان می‌باشد [۴۴، ۵۲، ۵۷]. بیش از ۷۰ ماده شیمیایی در ریشه کودزو شناخته شده است [۳۸، ۶۸]. گل‌ها و ریشه کودزو دارای ترکیبات شیمیایی شامل فلاونوئید، ایزوفلاونوئید و ایزوفلاون (از جمله Puerarin) می‌باشد [۱۷، ۲۰، ۴۰، ۴۸، ۶۶، ۶۷]. گلیکوزیدهای تری ترین اولئانن (Oleanene) بعنوان ساپونین‌های کودزو شناسایی شده‌اند [۷، ۸]. در برگ کودزو نیز روبینین (Robinin) گزارش شده است [۵۴]. از دیگر ترکیبات کودزو شامل دایدزین، دایدزئین، جنیستین، جنیستین، تکتوریدین، کاکالید، کومارین، فورمونونین، بیوکائین A، استرول‌های گیاهی و ترکیبات پلی‌فنولیک می‌باشند [۲۱]. همچنین ریشه کودزو دارای ترکیباتی همچون متیل پالمیتات، متیل استارات، ۲ متوکسی اتیل استات، استیل کربانول و

افزایش ریسک بیماری‌های قلبی عروقی ارتباط مستقیمی دارد. بیماران دیابتی مستعد مشکلاتی در عملکرد جنسی خود شامل کاهش هیجان جنسی، ناتوانی جنسی و نازایی می‌باشند [۱، ۲]. دیابت اثرهای عملکردی و ساختاری مختلفی بر سیستم تولیدمثلی نر دارد. کاهش تولید تستوسترون [۶۰]، تحلیل غدد ضمیمه تولیدمثلی [۱۰]، کاهش میل جنسی [۶۰]، و کاهش رفتارهای جنسی در افراد مبتلا به دیابت گزارش شده است [۱۱، ۱۹]. دیابت بر اسپرماتوزن نیز تأثیر می‌گذارد [۱۱، ۲۲]. کاهش کیفیت پایین مایع سمینال شامل کاهش تحرک اسپرم [۹]، کاهش تعداد اسپرم و افزایش اسپرم‌های ناهنجار [۴۳] در افراد دیابتی گزارش شده است. کاهش تراکم اسپرم را باید به دلیل اثر شدید افزایش قند خون بر مراحل آخر اسپرماتوزن دانست. القای تخریب DNA در هسته اسپرم و نقص در اسپرماتوزن بر پتانسیل باروری اثر می‌گذارد [۴، ۵، ۵۸]. اختلال نعوظ نیز همراه با عوارض پیشرفته دیابت همچون رتینوپاتی (آسیب شبکیه چشم)، بیماری‌های قلبی عروقی، نفروپاتی و اختلالات نورولوژیک پیشرفته گزارش شده است. با این وجود علت اصلی اختلال نعوظ در دیابتی‌ها هنوز شناخته نشده است [۱، ۲].

رابطه‌ای میان مصرف سیگار، فشار خون، هیپرلیپیدی (افزایش چربی خون) و افزایش سن با ابتلا به این عارضه (دیابت نوع دو بیشتر) مشاهده شده است. اثرات مخرب متابولیسمی دیابت در بدن شامل اکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌باشد [۳۹]. استفاده از گیاهان دارویی در درمان و کاهش اثرات زیانبار دیابت از قدیم‌الایام رایج بوده و یکی از این گیاهان که بطور سنتی بخصوص در چین و ژاپن مورد استفاده قرار می‌گرفته کودزو (kudzu) می‌باشد [۲۳]. گیاه کودزو شامل چند گونه از جنس *Pueraria* متعلق به تیره Fabaceae (حبوبات یا نخود) می‌باشد. چندین گونه از این جنس کشف شده که مهم‌ترین آنها *P. montana*، *P. lobata* و *P. thomsonii* می‌باشند. مشخصات ریخت-

عصاره ریشه کودزو از مرکز آموزش عالی علمی کاربردی رسول اکرم (ص) دامغان تهیه شد. ۲۷ سر موش صحرایی نر بالغ به سه گروه دسته‌بندی شدند: ۱- گروه کنترل: شامل ۹ سر موش سالم که فقط به مدت ۵ هفته با جیره استاندارد و در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. ۲- گروه دیابتی: شامل ۹ سر موش که با تزریق ۵۰ میلی-گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ) دیابتی شده و پس از گذشت دو هفته از دیابتی شدن به مدت ۵ هفته در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند.

۳- گروه تجربی یا تیمار شده با کودزو: شامل ۹ سر موش که با تزریق ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم STZ دیابتی شده و پس از گذشت دو هفته از دیابتی شدن به مدت ۵ هفته، روزانه میلی‌گرم بر کیلوگرم ۱۰۰، عصاره الکلی کودزو بصورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

**القاء دیابت:** تعداد ۱۸ سر از موش‌ها پس از تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۰ mg/kg) محلول در بافر سیترات دیابتی شدند، برای اطمینان ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ، خونگیری از سیاهرگ دمی انجام شد و قند خون توسط دستگاه Glucocard 01 SENSOR سنجیده شد. موش‌هایی که قند خون ناشتای آنها بالای ۳۰۰ بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. عصاره الکلی ریشه کودزو بطور روزانه متناسب با وزن موش‌ها با دوز mg/kg ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به شکل درون صفاقی به موش‌های گروه تجربی تزریق شد.

از حیوانات در یک نوبت پس از اتمام دوره‌ی آزمایش جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی و هورمونی خونگیری به عمل آمد. قبل از خونگیری حیوانات با تزریق کتامین و دیازپام (با نسبت ۸۰ میلی‌گرم کتامین و ۲۰ میلی‌گرم دیازپام) به صورت درون صفاقی بیهوش شدند. سپس حیوانات بر روی تخته تشریح فیکس شده و خون مستقیماً از قلب آنها گرفته شد. خون گرفته شده درون لوله آزمایش ریخته شد و در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰-۵ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ rpm قرار گرفتند تا سرم آنها جدا

بوتانوئیک اسید می‌باشد که باعث عطر و رایحه این گیاه می‌باشد [۴۱]. پوئارین یکی از اصلی‌ترین اجزاء ترکیب ریشه کودزو بوده و به سه شکل تزریقی، کپسول و قرص موجود است و در چین یکی از متداول‌ترین داروها در درمان کم‌خونی‌های حاد می‌باشد [۳۷، ۶۳]. پوئارین اثر رگ‌گشایی دارد و عملکرد آن از طریق غشای داخلی وابسته به سیستم نیتریک اکساید و ATP حساس به کانال‌های پتاسیمی است [۶۲]. همچنین به عنوان یک محافظ عصبی عمل می‌کند [۲۴، ۲۵]. تاثیر گشادکنندگی عروق مغز و خاصیت آنتی‌آپوپتوزی نیز دارد [۱۸، ۲۶]. با توجه به خواص دارویی متعدد گیاه کودزو، هدف از این مطالعه اثر عصاره الکلی ریشه کودزو بر محور HPG (هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد) در رت‌های دیابتی نر می‌باشد.

#### مواد و روش کار

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۴۰-۲۲۰ گرم از بخش حیوانات انستیتو پاستور آمل تهیه شدند. سن حیوانات در هنگام انجام آزمایش یک تا یک و نیم ماه بود. حیوانات در شرایط کنترل شده از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دمای محیط (۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد) در حیوانخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند (شکل ۱). این شرایط طی آزمایش نیز حفظ گردید. در این مدت جهت تغذیه آنها از غذای مخصوص موش (غذای فشرده) و آب آشامیدنی شهری در داخل ظروف آبخوری مخصوص استفاده گردید و حیوانات به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. قفس‌های نگهداری حیوانات هفته‌ای دوبار ضدعفونی شده و قفس‌ها هر روز شستشو و خرده‌های چوب آن تعویض گردید. به علت دیابت و عوارض ناشی از آن مانند اسهال و پرادراری حیوانات روزانه شستشو داده شدند.



آبگیری چاهکها سوبسترا به درون چاهکها اضافه شدند. بعد از سپری شدن زمان معین در مرحله آخر محلول STOP را به درون چاهکها اضافه کرده و توسط دستگاه الیزا ریدر در طول موجهای ۴۵۰ تا ۶۳۰ نانومتر خوانده می شود.

برای اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی سرم در سه لوله آزمایش جداگانه مقدار مشخص از نمونه استاندارد کیت، نمونه blank و نمونه سرم وارد کرده سپس به هر لوله، ۲ سی سی از محلول کیت فاکتور مورد سنجش اضافه شد. پس از مخلوط کردن، به مدت مشخص در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و در نهایت نمونه ها در اسپکتروفوتومتر قرار داده شده و در طول موج ۵۰۵nm قرائت شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. نتایج بدست آمده بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد. برای بررسی اختلاف معنی دار بین گروهها از آزمون Mann-Whitney و NPar (None Parametric) استفاده شد. مرز استنتاج آماری نتایج  $p < 0.01$  در نظر گرفته شد. هستیوگرامها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

شود. سرمها توسط سمپلر به لوله های اپندورف شماره گذاری شده منتقل گردید و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد قرار گرفتند. اندازه گیری سطح هورمونها و انسولین در آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر احمدی در بهشهر انجام شد.

در روز پنجاهم، پس از بیهوشی و تثبیت حیوانات بر روی تخته جراحی و خونگیری از قلب، شکم آنها باز شد و اندامهای تناسلی دو طرف شامل بیضه، اپیدیدیم و وازودفران خارج گردیدند. بیضه ها توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند. سپس با کمک استوانه مدرج حجم بیضه محاسبه گردید.

نمونه های سرم فریز شده در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد در انتهای کار جهت آنالیز هورمونهای LH، FSH، تستوسترون و انسولین و همچنین سنجش برخی فاکتورهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری هورمونها بر اساس روش ELISA، واکنش بین آنتی ژن و آنتی بادی می باشد. در این مرحله ابتدا با توجه به دستورالعمل کیت نمونه استاندارد، کنترل و سرم را به چاهکها اضافه می کنیم و روی آن مقداری آنزیم کونژوگه اضافه کرده، پس از گذشت زمان مشخص شده طبق دستور چند مرحله شستشو انجام داده و پس از



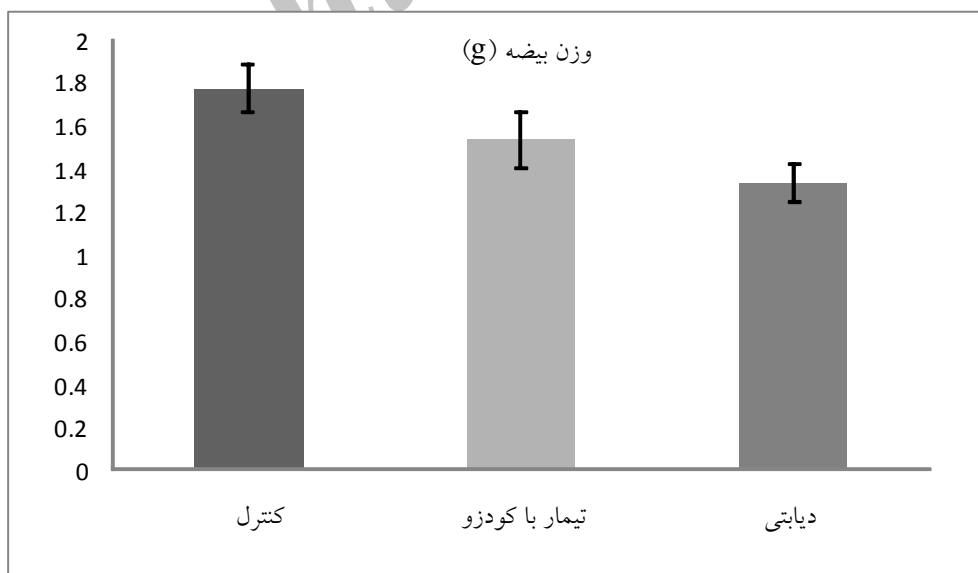
شکل ۱- قفس های نگهداری حیوانات

## نتایج

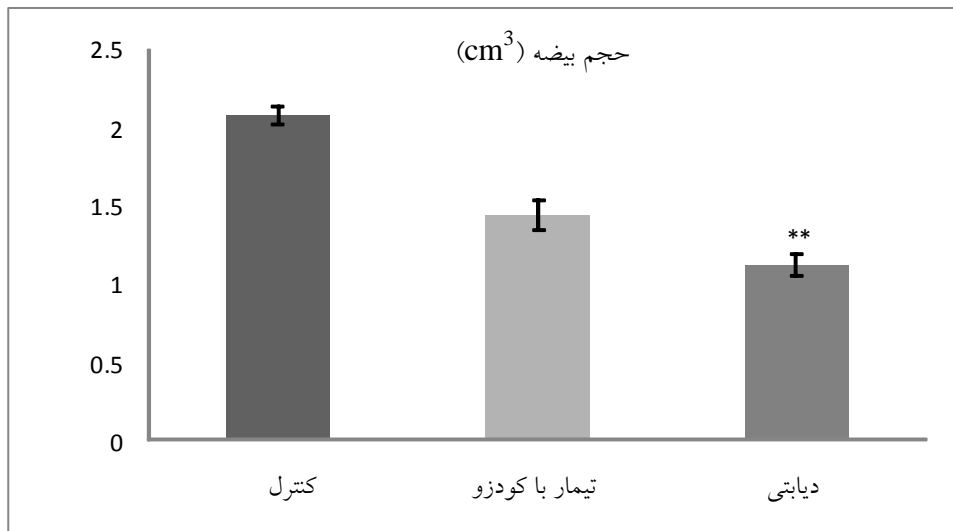
داده ولی میزان آن نسبت به گروه دیابتی افزایش یافته است (نمودار ۴). مقایسه میزان هورمون تستوسترون نشان داد، دیابت باعث کاهش معنی‌دار تستوسترون در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل شده است ( $p \leq 0/01$ ). تستوسترون در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی افزایش داشته است. گروه تیمار اختلاف معنی‌داری ( $p \leq 0/01$ ) با گروه کنترل نشان داد (نمودار ۵). مقایسه میزان هورمون FSH نشان داد، دیابت سبب کاهش معنی‌دار این هورمون شده است. میزان FSH در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی افزایش یافته است اما این افزایش معنی‌دار نیست (نمودار ۶).

مقایسه میزان هورمون LH بین گروه‌ها نشان داد که دیابت سبب کاهش معنی‌دار این هورمون شده است (نمودار ۷). همچنین دیابت سبب کاهش معنی‌داری در وزن موش‌ها شده به طوری که در گروه کنترل و دیابتی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. وزن بدن در گروه تیمار از دیابتی بیشتر بوده است (نمودار ۸).

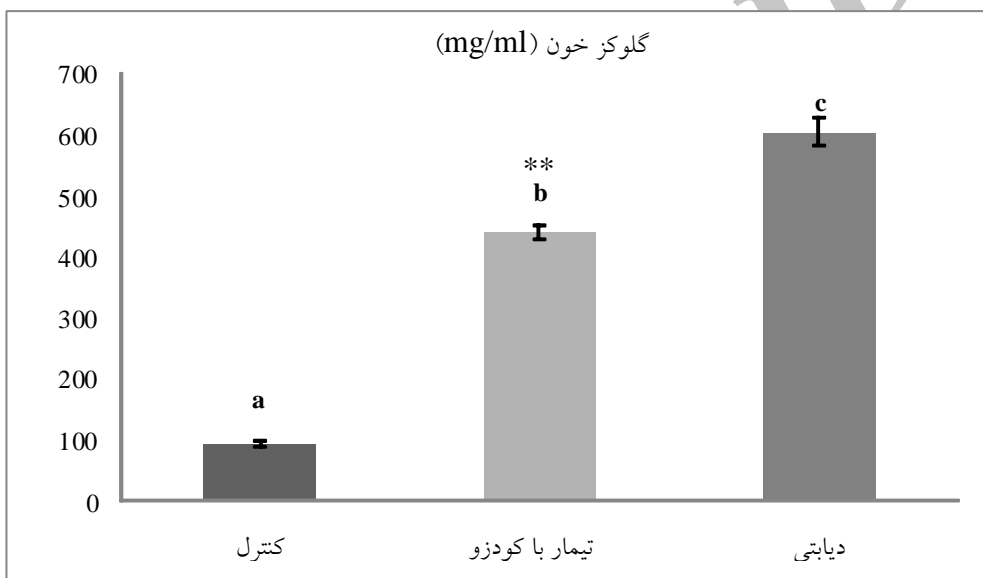
مقایسه وزن بیضه نشان داد دیابت سبب کاهش غیرمعنی‌دار وزن بیضه در گروه دیابتی نسبت به گروه شاهد شده است. دیابت سبب کاهش وزن بیضه در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل شده اما این کاهش معنی‌دار نبوده است (نمودار ۱). حجم بیضه در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $p \leq 0/01$ ). در گروه تیمار، حجم بیضه نسبت به گروه دیابتی افزایش یافته اما معنی‌دار نبوده است (نمودار ۲). مقایسه میزان گلوکز سرم نشان داد دیابت سبب افزایش معنی‌دار گلوکز در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل شده است ( $p \leq 0/01$ ). افزایش گلوکز خون در گروه تیمار نیز نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p \leq 0/01$ ), در گروه تیمار، گلوکز نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری داشته است ( $p \leq 0/01$ ) (نمودار ۳). مقایسه میزان انسولین نشان داد که دیابت سبب کاهش معنی‌دار انسولین در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل شده است ( $p \leq 0/01$ ). انسولین در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش نشان



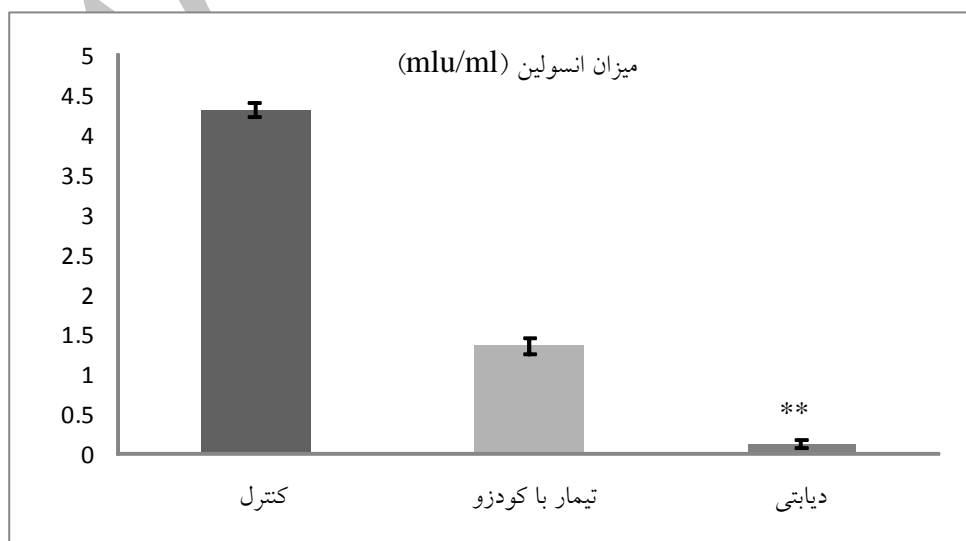
نمودار ۱- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار وزن بیضه بین گروه‌ها (\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p < 0/01$ )



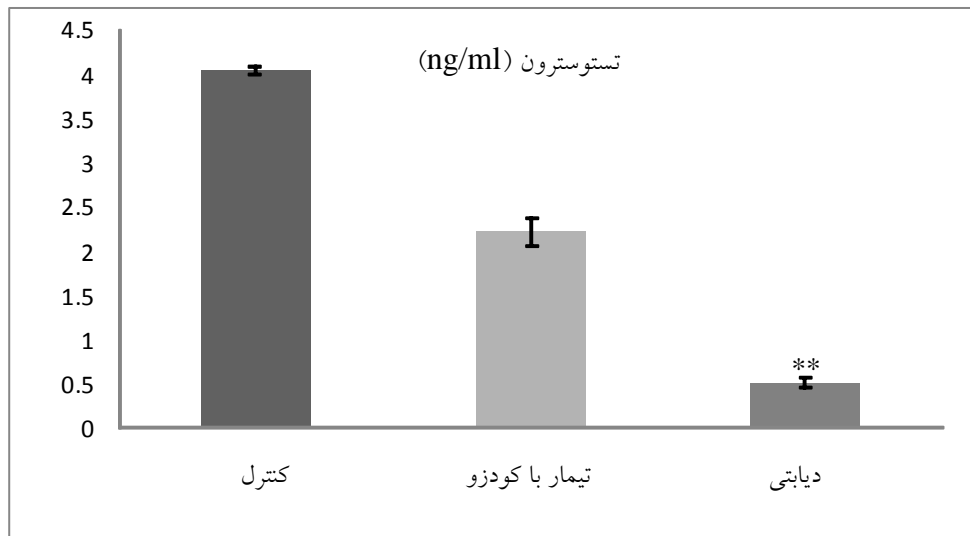
نمودار ۲- مقایسه میانگین ± انحراف معیار حجم بیضه بین گروه‌ها



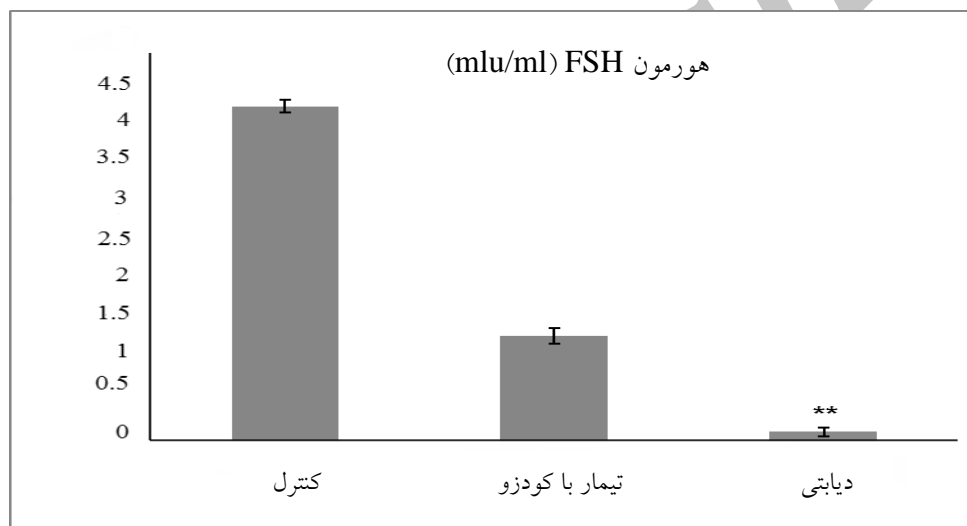
نمودار ۳- مقایسه میانگین ± انحراف معیار میزان گلوکز سرم خون بین گروه‌ها (حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها)



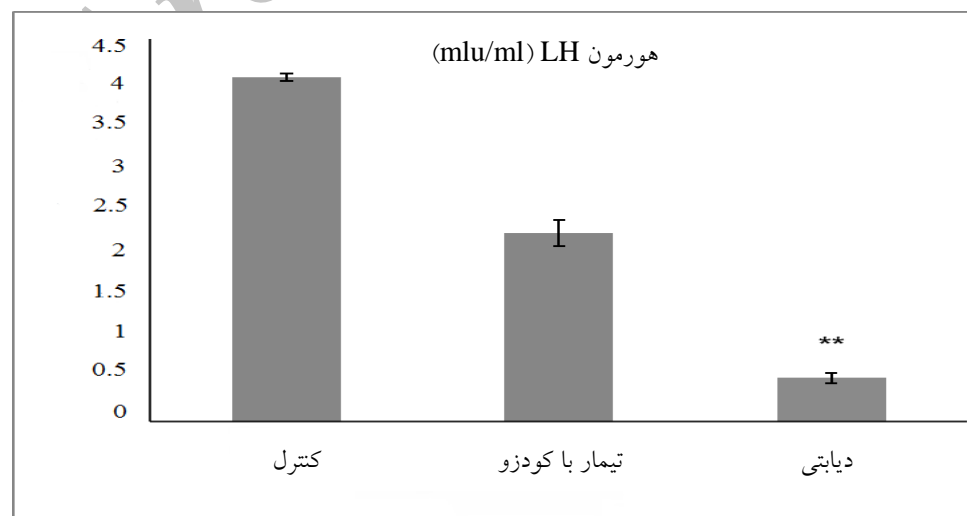
نمودار ۴- مقایسه میانگین ± انحراف معیار میزان انسولین سرم خون بین گروه‌ها



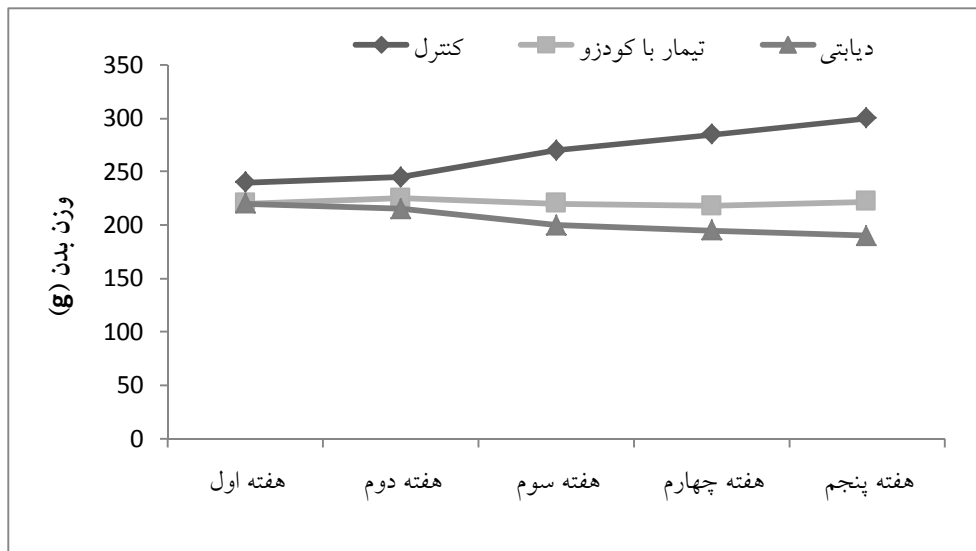
نمودار ۵- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار میزان هورمون تستوسترون سرم خون بین گروه‌ها



جدول ۶- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار میزان هورمون FSH بین گروه‌ها



نمودار ۷- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار میزان هورمون LH بین گروه‌ها



نمودار ۸- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار وزن بدن در زمان‌های مختلف بین گروه‌ها

### بحث

عنوان یک پروموتور در کشت‌های سلولی کبد انسان و ماهیچه اسکلتی افزایش می‌دهد [۵۵]. در مطالعات قبلی نشان داده شده عصاره الکلی کودزو قادر است از تخریب سلول‌های بتای پانکراس در مقابل استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی جلوگیری کند [۴۹].

عصاره الکلی کودزو دارای اثرات مهار بر روی لیپواکسیژناز [۶۴] و گزانتین اکسیداز [۷۲] که دو منبع مهم ایجاد کننده ROS هستند، می‌باشد که بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است. مطالعات نشان داده است که عصاره الکلی کودزو می‌تواند از اکسیداسیون LDL ناشی از حضور یون کلسیم جلوگیری کرده و از عملکرد معیوب سلول ناشی از LDL اکسید شده محافظت می‌کند [۷۲]. عصاره الکلی کودزو به طور بارزی سبب افزایش فعالیت سوپراکسیددسموتاز شده و تشکیل سوپراکسید آنیون و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) را کاهش می‌دهد [۶۹]. بعلاوه عصاره الکلی کودزو اثرات مخرب  $H_2O_2$  را بوسیله افزایش توانایی زیست سلول، تولید NO، فعالسازی سوپراکسید دسموتاز، کاهش آزادسازی لاکتیک اسید دهیدروژناز و MDA مهار می‌کند [۲۹]. این مکانیسم‌ها سبب کنترل استرس اکسیداتیو و در نتیجه بهبود عوارض

نتایج این پژوهش نشان داد، تجویز عصاره الکلی کودزو در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین تا حدودی سبب بهبود هورمون‌های جنسی کاهش یافته در اثر دیابت می‌گردد. عصاره الکلی ریشه کودزو سبب افزایش حجم بیضه شده ولی بر روی وزن بیضه تاثیر معناداری نداشته است. سنجش‌های هورمونی، افزایش در میزان هورمون‌های گنادوتروپین (FSH و LH) و تستوسترون در گروه تیمار را مشخص می‌کند. بعلاوه سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی خون نشان می‌دهد عصاره الکلی کودزو سبب کاهش گلوکز و افزایش میزان انسولین سرم خون در گروه تیمار می‌شود.

استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی به دلیل تولید بیش از حد اکسیژن باز فعال شده (ROS) افزایش می‌یابد که در نتیجه باعث کاهش کارایی دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۱۳، ۱۴، ۳۰، ۷۰]. اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌های دیگر مثل DNA در طول پیشرفت دیابت اتفاق می‌افتد [۳۱، ۳۲، ۴۵].

عصاره الکلی کودزو اثرات بسیاری بر هومئوستاز گلوکز دارد. در واقع عصاره الکلی کودزو بیان mRNA گیرنده انسولین را از طریق پروتئین کیناز وابسته به سایکلین به



ممکن است یک اثر مستقیم ضعیف بر ترجمه یا بیان ناقل‌های گلوکز داشته باشد که البته این اثر فقط در غلظت‌های بالای عصاره قابل مشاهده است. عصاره الکلی کودزو در حضور انسولین قادر است مصرف و جذب گلوکز وابسته به انسولین را افزایش دهد. عصاره الکلی کودزو قادر به تحریک ترجمه GLUT4 و افزایش بیان GLUT1 می‌باشد [۵۳]، عصاره الکلی کودزو با القا فسفریلاسیون Thr-173 در AMPK سبب افزایش حساسیت به انسولین و عملکرد میتوکندریایی می‌شود [۳۶]. عصاره الکلی کودزو مصرف اکسیژن را مهار کرده و گلیکولیز را بوسیله افزایش محصولات لاکتات افزایش می‌دهد. کارایی بیوستتز ATP در نتیجه گلیکولیز در مقایسه با بیوستتز آن در میتوکندری بسیار پایین‌تر است. این تفاوت برای افزایش نسبت AMP/ATP است.

به نظر می‌رسد که فعال شدن AMPK ممکن است نتیجه مهار میتوکندریایی توسط عصاره الکلی کودزو باشد. این مهار خفیف عملکرد میتوکندریایی ممکن است به بهبود حساسیت به انسولین کمک کند. عصاره الکلی کودزو ممکن است سبب کاهش جذب گلوکز در روده شود زیرا عصاره الکلی کودزو به عنوان یک مهارکننده گلوکوزیداز عمل می‌کند. گلوکوزیداز یک آنزیم روده‌ای است که برای هضم کربوهیدرات‌هایی مانند شکر و نشاسته به مونوساکاریدها بکار می‌رود. مهار این آنزیم سبب توقف جذب کربوهیدرات‌های رژیم غذایی می‌شود. پس از مصرف عصاره الکلی کودزو انتقال گلوکز از خلال اپیتلیوم روده‌ای کاهش می‌یابد [۶۷].

عصاره الکلی کودزو احتمالاً از طریق این دو مکانیسم باعث کنترل گلوکز خون می‌شود. عصاره الکلی کودزو حساسیت به انسولین، ترشح انسولین و بازسازی سلول-های بتا را در موش‌های مورد آزمایش نشان داده است. بعلاوه عصاره الکلی کودزو می‌تواند فعالیت سوپراکسید دسموتاز پانکراس را به مقدار نزدیک به حد نرمال بازگرداند [۶۱].

مخرب رادیکال‌های آزاد در بافت‌ها شده سبب بازسازی سلول‌های بافت بیضه می‌گردد.

در تحقیق حاضر، دیابت باعث کاهش در مقدار تستوسترون، نسبت به گروه شاهد شده است. اما در گروه تیمار افزایش میزان این هورمون مشاهده شد. مقدار تستوسترون ترشح شده تقریباً نسبت مستقیم با مقدار LH دارد و افزایش مقدار تستوسترون باعث بهبود مراحل اسپرماتوژنز می‌شود. دیابت باعث کاهش هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) می‌شود [۵۶]. یک احتمال آن می‌تواند دخالت هورمون انسولین در تنظیم فعالیت‌های هیپوفیزی-گنادی باشد [۱۵، ۳].

تحقیقات نشان داده است که در غیاب انسولین، توانایی سلول‌های بخش قدامی هیپوفیز در استفاده‌ی از گلوکز کاهش یافته و از این طریق به کاهش GnRH می‌انجامد [۵۰]. نشان داده شده که نوعی فیدبک استروئیدی غیرمتعارف در محور هیپوفیزی-هیپوتالاموسی بوجود آمده که حساسیت هیپوفیز را در تنظیم فعالیت این محور کاهش می‌دهد [۶، ۲۴]. بنابراین با کنترل دیابت می‌توان با متعادل نگهداشتن سطح اندروژن پلازما، فعالیت طبیعی هورمون‌های غددجنسی نر را کنترل نمود [۴۶].

عصاره الکلی کودزو با دو عمل کاهنده قند خون و افزایش انسولین سبب افزایش هورمون‌های گنادوتروپین می‌گردد. بعلاوه عصاره الکلی کودزو قادر به عبور از سد خونی- مغزی بوده که مقالات بسیاری مبنی بر عملکرد عصاره الکلی کودزو بر روی عملکرد مغز این موضوع را تأیید می‌کند [۳۶]، بنابراین این احتمال که عصاره الکلی کودزو با اثر بر هیپوتالاموس و هیپوفیز مستقیماً در تنظیم ترشح گنادوتروپین‌ها نقش داشته باشد نیز وجود دارد.

سنجش میزان قند خون نشان‌دهنده کاهش در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی بوده بعلاوه مقدار انسولین که در نمونه‌های دیابتی بطور معنی‌داری کاهش یافته بوده در گروه تیمار افزایش یافته است. اثرگذاری عصاره الکلی کودزو در کاهش گلوکز خون بیماران دیابتی با داروهای چون متفورمین مقایسه شده است. عصاره الکلی کودزو



## نتیجه گیری

به نظر می‌رسد عصاره الکلی کودزو به دلیل داشتن اثراتی مانند جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد، آنتی اکسیدان، ضد آپوپتوز، ضد التهاب و عامل ایجاد کننده تعادل اکسیدان و آنتی اکسیدان بتواند نقش درمانی مهمی در کاهش آسیب‌های بیضه‌ای متعاقب دیابت در بیماران دیابتی ایفا نماید. غربالگری و تشخیص زودرس این بیماری در افراد با ریسک بالا می‌تواند در پیشگیری از عوارض بیماری مؤثر باشد. تشخیص و غربالگری دیابت با انجام آزمایش قند خون میسر است. این گیاه به عنوان عاملی که از طریق اثرات کاهشنده قند خون و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو و اثرات مخرب آن سبب بهبود عوارض ناشی از دیابت می‌شود، توصیه می‌گردد.

## منابع

1. مفید ع., سیدعلی نقی س. ا., زندیه س., مفید ر. ۱۳۸۴. بیماری چاقی علل، انواع، عوارض و درمان آن، انتشارات اوسانه.
2. مفید ع., سیدعلی نقی س. ا., زندیه س., مفید ر. ۱۳۸۸. بیماری دیابت راهنمای جامع تشخیص، پایش و درمان. انتشارات اوسانه.
3. Adashi E.Y., Hsueh A.J., Yen S.S. (1981), Insulin enhancement of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release by cultured pituitary cells. *Endocrinology*, 108(4): 1441-1449.
4. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. (1989), Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biology of Reproduction*, 41:183-197.
5. Aitken R.J., Sawyer D. (2003), The human spermatozoon—not waving but drowning. *Adv Exp Med Biol*, 518: 85-98.
6. Altay B., Cetinkalp S., Doganavsargil B., Hekingil M., Semerci B. (2003), Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis. *Fertility and Sterility*, 80(suppl 2): 828-231.
7. Arao T., Kinjo J., Nohara T., Isobe R. (1995), Oleanene-type triterpene glycosides from *Puerariae radix*. II. Isolation of saponins and the application of tandem mass spectrometry to their structure determination. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, (Tokyo), 43(7): 1176-1179.
8. Arao T., Kinjo J., Nohara T., Isobe R. (1997), Oleanene-type triterpene glycosides from *Puerariae radix*. IV. Six new saponins from *Pueraria lobata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 45(2): 362-366.
9. Baccetti B., La Marca A., Piomboni P., Capitani S., Bruni E., Petraglia F. (2002), Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Human Reproduction*, 17: 2673-2677.
10. Balasubramanian K., Sivashanmugam P., Thameemdeen S, Govindarajulu P. (2002), Effect of diabetes mellitus on epididymal enzymes of adult rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 29: 907-909.
11. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil JE. (2004), Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *Journal of Andrology*, 25: 706-719.
12. Banks, M. (2008), Weed profile: Kudzu. Newsletter of the Land for Wildlife Program South East Queensland, Australia, 2: 6.
13. Baynes JW. (1991), Role of oxidative stress in development of complications of diabetes. *Diabetes*, 40: 405-412.
14. Baynes JW, Thorpe SR. (1999), Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48: 1-9.
15. Behnam Rasouli M., Nikraves M.R., Mahdavi Shahri N., Tehranipour M. (2000), Post operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a stereological counting method (Dissector). *IBJ*, 4(1): 41-49.



- opportunities in stroke. *Nature Neuroscience*, 4: 399-415.
27. EPPO. (2007), Data sheets on quarantine pests: *Pueraria lobata*. *European and Mediterranean Plant Protection Organization Bulletin*, 37: 230-235.
28. Fang Q. (1980), Some current study and research approaches relating to the use of plants in the traditional Chinese medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 2: 57-63.
29. Forman B.M., Tontonoz P., Chen J., Brun R.P., Spiegelman B.M., Evans R.M. (1995), 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell*, 83: 803-812
30. Giron M.D., Salto R., Gonzalez Y., Giron J.A., Nieto N., Periago J.L. (1999), Modulation of hepatic and intestinal glutathione S-transferases and other antioxidant enzymes by dietary lipids in streptozotocin diabetic rats. *Chemosphere*, 38: 3003-3013.
31. Halliwell B. (1996), Antioxidants in human health and disease. *AnnuRev Nutr*, 16: 33-50.
32. Halliwell B. (1995), Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemistry and Pharmacology*, 49: 1341-1348
33. Jewett D.K., Jiang C.J., Britton K.O., Sun J.H., Tang J. (2003), Characterizing specimens of Kudzu and related taxa with RAPD's. *Castanea*, 68(3): 254-260.
34. Keung W.M., Vallee B.L. 1998. Kudzu root: an ancient Chinese source of modernantidipsotropic agents. *Phytochemistry*, 47: 499-506.
35. Kinjo J., Aoki K., Okawa M., Shii Y., Hirakawa T., Nohara T., Nakajima Y., Yamazaki T., Hosono T., Someya M., Niiho Y., Kurashige T. (1999), HPLC profile analysis of hepatoprotective oleanene-glucuronides in *Puerariae Flos*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47: 708-710.
36. Kulkarni S.K., Dhir A. 2010. Kudzu: A Plant Alkaloid with Therapeutic Potential for Central Nervous System Disorders. *Phytotherapy Research*, 24(3): 317-324.
16. Bodner C.C., Hymowitz T. (2002), Chapter 2: ethnobotany of *Pueraria* species. In: Keung, W.M. (Ed.), *Pueraria: The Genus Pueraria*. CRC Press, USA, p. 13.
17. Boué S.M., Wiese T.E., Nehls S. (2003), Evaluation of the estrogenic effects of legume extracts containing phytoestrogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8): 2193-2199.
18. Chen, L., Chai, Q., Zhao, A., Chai, X., (1995), Effect of puerarin on cerebral blood flow in dogs. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi/China Journal of Chinese Materia Medica*, 20: 560-562.
19. Chen C.S., Chao H.T., Pan R.L., Wei Y.H. (1997), Hydroxyl radical induced decline in motility and increase in lipid peroxidation and DNA modification in human sperm. *Biochem Molecular Biology International*, 43:291-303.
20. Chen S., Yang D., Chen S., Xu H., Chan A.S. (2007), Seasonal variations in the isoflavonoids of radix *Puerariae*. *Phytochemical Analysis*, 18: 245-250.
21. Chevallier A. *Encyclopedia of Medicinal Plants*. New York, NY: DK Publishing; 1996.
22. Clermont Y. (1972), Kinetics of Spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial Renewal. *Physiological Review*, 52: 198-236.
23. Csurhes S. (2008), Kudzu (*Pueraria montana* var. *lobata*) Infestation on the Gold Coast. Department of Primary Industries and Fisheries. Queensland Government, Australia.
24. Dong Q., Lazarus R.M., Wong L.S., Vellios M. (1991), Pulsatile LH secretion in streptozotocin-induced diabetes in the rat. *Journal of Endocrinology*, 131(1): 49-55.
25. Durukan A., Tatlisumak T. (2007), Acute ischaemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral schaeimia. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 87: 179-197.
26. Eng H.L., Dalkara T., Moskowitz M.A. (2003), Mechanisms, challenges and



Kudzu in isolated organs. *Arzneimittel forschung*, 42:1095-1097.

47. Park K.Y., Jung G.O., Choi J., Lee K.T., Park H.J. (2002), Potent antimutagenic and their anti-lipid peroxidative effect of kaikasaponin III and tectorigenin from the flower of *Pueraria thunbergiana*. *Archives of Pharmacal Research*, 25: 320-324.

48. Penetar D.M., Teter C.J., Ma Z., Tracy M., Lee D.Y., Lukas S.E. (2006), Pharmacokinetic profile of the isoflavone puerarin after acute and repeated administration of a novel kudzu extract to human volunteers. *Journal of Alternative Complementary Medicine*, 12(6): 543-548.

49. Perry L.M. (1980), Medicinal Plants of East and Southeast Asia-Attributed Properties. Massachusetts Institute of Technology Press, Cambridge, p. 225.

50. Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA, Valassi E, Yialamas M, Elahi D, Hayes FJ. (2005), Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(5): 2636-2641.

51. Prasain J.K., Jones K., Kirk M., Wilson L., Smith-Johnson M., Weaver C., Barnes S. (2003), Profiling and quantification of isoflavonoids in kudzu dietary supplements by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4213-4218.

52. Price K.R., Fenwick G.R. (1985), Naturally occurring estrogens in foods—a review. *Food Additives and Contaimnants*, 2: 73-106.

53. Rong H., De Keukeleire D., De Cooman L., Baeyens WR, Van der Weken G. (1998), Narrow-bore HPLC analysis of isoflavonoid aglycones and their O- and C-glycosides from *Pueraria lobata*. *Biomed Chromatography*, 12(3):170-171.

54. Saïad S.A., Borysov M.I., Koval'ov V.M. (1979), Isolation, identification and quantitative determination of robinin in the leaves of *Pueraria lobata*. *Farm Zh*, 4: 52-55.

37. Liu L.H., Liu F.Q., Tian H. (2008), Clinical observation of puerarin decoction in treating hyperlipoproteinaemia. *Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine*, 30: 804-805.

38. Long Z.G., Zhao X.Y. (2002), Effect of different processing methods on the content of puerarin in gegan. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 22: 511-512.

39. Loft S., Fischer-Nielsen A., Jeding I.B., Vistisen K., Poulsen H.E. (1993), 8-Hydroxydeoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative DNA damage. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40: 391-404.

40. Ma Z., Wu Q., Lee DY., Tracy M., Lukas S.E. (2005), Determination of puerarin in human plasma by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 823(2): 108-114.

41. Mahboob M., Rahman M.F., Grover P. (2005), Serum lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in male and female diabetic patients. *Singapore Med J*, 46: 322-324.

42. Malaisse W.J. (1983), Insulin release: the fuel concept. *Diabetes and Metabolism*, 9: 313-20.

43. Murray F.T., Cameron D.F., Orth J.M., Katovich M.J. (1985), Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rats: alteration of the testes morphology, serum testosterone and LH. *Hormone and Metabolism Research*, 17: 495-501.

44. Nakamoto H., Miyamura S., Indad K., Nakamura N. (1975), The study of the aqueous extract of *Puerariae Radix* I. The preparation and the components of the active extract. *Yakugaku Zasshi Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 95: 1123-1127.

45. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979), Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95: 351-358.

46. Olmez E, Ilhan M. (1992), Evaluation of alpha-adrenoreceptor antagonistic action of



- lipoxygenase by a non redox mechanism. *Planta Medica*, 62: 397-401.
65. Wang Q., Wu T., Chen X., Ni J., Duan X., Zheng J., Qiao J., Zhou L., Wei J. (2006), Puerarin injection for unstable Angina pectoris. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3:, CD004196.
66. Walz E. (1931), Isoflavon- and Saponin-glucosides in Soja hispida. Justus Liebigs *Annalen der Chemie*, 498: 118-155.
67. Wang S.H., Wang W.J., Wang X.F., Chen W. (2004), Effect of Astragalus polysaccharides and Kudzu on carbohydrate metabolism and cell differentiation in 3T3-L1 adipocytes. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 24: 926-928.
68. Wang Y.Z., Feng W.S., Shi R.B., Liu B., (2007), A new chemical component of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi. *Yao Hsueh Hsueh Bao/Acta Pharmaceutica Sinica*, 42: 964-967.
69. Wei D., Zhang E., Gao A., Zhou Z., Wu H., Huang L., Luo Y., Yang J. (2008), Effect on the puerarin contents of gegan for different harvesting and processing. *Research and Practice of Chinese Medicines*, 22: 10-13 (in Chinese).
70. Wiernsperger N.F. (2003), Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes and Metabolism*, 29: 579-85.
71. Wong K.H., Li S.Q., Li K.M., Razmovski-Naumovskia V., Chan K. (2011), Kudzu root: Traditional uses and potential medicinal benefits in diabetes and cardiovascular diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(3): 584-607.
72. Xiong Y., Yang Y., Yang J., Chai H., Li Y., Yang J., Jia Z., Wang Z. (2010), Tectoridin, an isoflavone glycoside from the flower of *Pueraria lobata*, prevents acute ethanol-induced liver steatosis in mice. *Toxicology*, 276: 64-72.
73. SDA. (2002), Introduction to Puerarin glucose injection. State Drug Administration Accessed 7 January 2011. Available at: <http://www.sda.gov.cn/hy5/028.htm>.
74. Seethalakshmi L., Menon M., Diamond D. (1987), The effect of streptozotocin induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *Journal of Urology*, 138(1): 190-194.
75. Shibata S., Murakami T., Nishikawa Y., Harada M. (1959), The constituents of Pueraria root. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 7: 134-136.
76. Sikka S.C. (2001), Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem*, 8: 851-862.
77. Song X.P., Chen P.P., Chai X.S. (1988), Effects of puerarin on blood pressure and plasma renin activity in spontaneously hypertensive rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 9: 55-58.
78. Soudamani S, Yuvaraj S, Rengarajan S, Sivakumar R, Malini T, Balasubramanian K. (2006), Effects of streptozotocin diabetes and insulin replacement on androgen and estrogen receptor concentrations in the epididymis of Wistar rats. *JER*, 10: 59-61.
79. Sun Y.X., Li J.Q. (2002), The vasodilation effect of puerarin and underlying mechanism. *Zhong Cao Yao/Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 33: 733-734.
80. Tabor P., Susoot A.W. 1941. Zero to thirty mile-a-minute seedlings. *Soil Conservation*, 8: 61-65.
81. Tsuchihashi R., Kodera M., Sakamoto S., Nakajima Y., Yamazaki T., Niiho Y., Nohara T., Kinjo J. (2009), Microbial transformation and bioactivation of isoflavones from Pueraria flowers by human intestinal bacterial strains. *Journal of Natural Medicine*, 63: 254-260.
82. Vavreckova C., Gawlik I., Muller K. (1996), Benzophenanthridine alkaloids of *Chelidonium majus*; I. Inhibition of 5- and 12-