مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۳۹۸، دوره ۲۱، صفحه ۳۳۷-۳۳۱

تاثیر عصاره آبی–الکلی شقایق کوهی(Glaucium flavum) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب و مغز موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان

آمنه خوشوقتی (PhD)[۱]، غلامحسین دریا (PhD)[۲*]، فرید هاشمی (DVM)[۳]، مهشاد کلانتری (MSc)[۴]، کیاوش هوشمندی (PhD)[۵]

۱-گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران
۲-گروه علوم بیومدیکال مقایسه‌ای، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۳-باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران
۴-گروه ژنتیک، دانشکده علوم نوین، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی، تهران، ایران
۵-گروه اپیدمیولوژی و بیماری‌های مشترک، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۹۷/۱۲/۱۵، اصلاح: ۹۸/۳/۵، پذیرش: ۹۸/۴/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو حلقه وصل دیابت با اختلالات نوروپاتیک و میکروواسکولار می‌باشد. در این مطالعه اثر عصاره آبی- اتانولی شقایق‌کوهی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب و مغز موش‌های صحرایی هدف ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: دراین مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی، شاهد سالم، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره شقایق کوهی با دوز ۵۰۰ mg/kg و دیابتی تیمار با داروی گلیبن‌کلامید به دوز ۵ µg/kg تقسیم شدند. دیابت با تزریق تک دوز آلوکسان به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم القا گردید. پس از گذشت یک ماه فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز قلبی و مغزی اندازه‌گیری و تجزیه وتحلیل شدند.

یافته‌ها: فعالیت قلبی هر سه آنزیم در گروه دیابتی+عصاره بطور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش نشان می‌داد($p<۰/۰۰۱$). فعالیت مغزی سوپراکسیددیسموتاز در گروه دیابتی+عصاره (۸/۷۹±۱/۴) بطور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی+دارو(۶/۷۷±۱/۷) بیشتر بود($p=۰/۰۳$)، همچنین، فعالیت کاتالاز در گروه دیابتی+عصاره (۴/۶۴±۱/۲) مجدداً نسبت به گروه دیابتی+دارو(۳/۸۳±۱/۵) افزایش یافت($p=۰/۰۰۱$)، مشابه با دو حالت قبل فعالیت گلوتاتیون‌پراکسیداز در گروه دیابتی+عصاره(۴/۲۳±۰/۷) بطور معنی‌داری از گروه دیابتی+دارو(۳/۶۴±۰/۴) بالاتر بود($p=۰/۰۳$).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که عصاره شقایق‌کوهی احتمالاً می‌تواند مکانیسم‌های عمده محافظتی بافت‌های قلب و مغز را در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت ارتقاء بخشد. هم‌چنین اثر عصاره در مجموع از اثر داروگلیبن‌کلامید موفقیت آمیزتر بوده و این اثر مثبت در بافت مغز آشکارتر بوده است.

واژگان کلیدی: دیابت، شقایق کوهی، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، موش صحرایی، آلوکسان.

مقدمه

بیماری دیابت مجموعه‌ای از اختلالات پیچیده مرتبط متابولیسمی بوده که با واسطه استرس‌های اکسیداتیو موجب عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز، اختلالات قلبی عروقی و عوارض مزمن نظیر نوروپاتی می‌شود (۱). افزایش گلوکز خون به نوبه خود، شروع یک سری از واکنش‌های آبشاری را القاء می‌کند که در نهایت منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد از جمله رادیکال آزاد اکسیژن در خون و بافت‌های گوناگون بدن می‌شود این ترکیبات به علت داشتن قدرت واکنش شیمیایی بالا موجب صدمات سلولی و بافتی می‌شوند (۲). از مهم‌ترین عوارض ناشی از دیابت شیرین نوروپاتی دیابتی است که این آسیب هم در اعصاب محیطی و هم در سیستم عصبی مرکزی روی می‌دهد. از مشخصه‌های اصلی آسیب عصبی در حین دیابت، اختلال در عملکردهای شناختی، صدمه به حافظه و کاهش یادگیری است. یافته‌های اخیر در حیوانات آزمایشگاهی مبتلا به دیابت نوع اول نشان می‌دهد که هیپرگلیسمی منجر به اختلال در حافظه و یادگیری می‌شود (۳)؛ همچنین کاهش میزان آستانه درد و به دنبال آن تخریب فیبرهای عصبی میلین‌دار و غیرمیلین‌دار از صدمات دیگر دیابت می‌باشد که می‌تواند باعث کاهش کیفیت زندگی این افراد گردد (۴). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که دیابت نقش مهمی در هایپرتروفی کاردیومایوسیت‌ها و القای مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) آنها داشته که این واقعه در طی افزایش استرس اکسیداتیو با واسطه سایتوکاین‌های التهابی واقع می‌شود (۵). مضاف بر این، رسوب پروتئینهای ماتریکس اکستراسلولار و تشکیل فیبروز میان بافتی و دور عروقی از دیگر پیامدهای آن است(۶). سلول‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد بویژه رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS) توسط چندین ترکیب آنتی‌اکسیدانی از جمله گلوتاتیون، ویتامین E، ویتامین C و آنزیم‌هایی مانند گلوتاتیون s-ترانسفراز (Glutathione s-transferase; GST)، سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide Dismutase; SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز(Glutathion Peroxidase;

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۵۱۵۲۵۸۹۰۴۱۰۰۰۵ دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد.
* مسئول مقاله: دکتر غلامحسین دریا
آدرس: شیراز، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین پزشکی، گروه علوم بیومدیکال مقایسه‌ای. تلفن: ۰۷۱-۳۲۳۰۵۴۷۱
E-mail: ghdarya88@gmail.com

GPX) و کاتالاز (Catalase; CAT) محافظت می‌شوند. از طرف دیگر مطالعات انجام یافته حاکی از کاهش معنی‌دار مقدار آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در خون و سلول‌های موش‌های دیابتی می‌باشد. از این رو، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بویژه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای جلوگیری از صدمات اکسیداتیو در بیماران دیابتی با شرایط استرس اکسیداتیو بالا می‌تواند سودمند باشد (۷). در حال حاضر با در نظر گرفتن عوارض جانبی داروهای صناعی، توجه محققان به‌سوی استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات دارویی با منشأ گیاهی جلب شده است (۸). گیاه شقایق کوهی از سرده شقایق با نام علمی (*Glaucium flavum*) گونه‌ای از تیره شقایقیان (Papaveraceae) می‌باشد که در فصل بهار می‌روید و به دلیل اهمیت دارویی و اقتصادی مورد توجه می‌باشد.

از جمله مصارف درمانی این گیاه می‌توان به درمان آبسه دندان، آنژین، آسم، برونشیت، سیاه سرفه و بی‌خوابی اشاره کرد (۱۰و۹). شناخته شده‌ترین ترکیبات این گیاه آلکالوئیدهای هستند که از آن جمله می‌توان به آپورفین (Aporphine)، پروتوپین (Protopine) و پروتوبربرین (Protoberberine) اشاره کرد. در این میان گلوسین (Glaucine) از زیر خانواده آپورفین به عنوان مهم‌ترین ترکیب آلکالوئیدی آن قلمداد می‌شود (۱۱). از ترکیبات آلکالوئیدی این گیاه به طور گسترده در صنعت داروسازی به عنوان مسکن، ضداحتقان و ضدسرفه بهره‌برداری می‌شود (۱۰). تاکید بر خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه با آشکار شدن خواص ضد ویروسی و ضدسرطانی آن تقویت شده است (۱۳و۱۲). گیاه فوق‌الذکر که در مناطق جنوبی ایران در میان محلی‌ها با نام "کلاتین" بوده و کاهش عوارض دیابت مورد مصرف قرار می‌گیرد. ضمن آنکه قابلیت کاهندگی قند خون برای این دارو در خرگوش‌های سالم به صورت علمی مطالعه و مورد تایید قرار گرفته بود (۱۴).

آلوکسان یکی از آنالوگ‌های سمی گلوکز است که با انتقال توسط گیرنده ناقل گلوکز شماره ۲ (Glucose Transporter 2; GLUT2) سلول‌های بتای پانکراس، درون سلول‌ها مجتمع شده و در حضور تیول‌ها باعث ایجاد گروه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود. این گروه‌ها با تولید رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروژن پراکسید باعث مرگ سلولی می‌شوند. شواهد اخیر حاصل از مطالعات مروری، افزایش استرس‌های اکسیداتیو را مقارن کاهش سطح عملکرد ویتامین‌ها و آنزیم‌های سرکوب کننده این عوامل مخرب چه در نوع یک و چه در نوع دو دیابت به اثبات رسانده‌اند (۲). از آنجائیکه تاکنون مطالعه ای به منظور بررسی آثار احتمالی عصاره خوراکی گیاهی شقایق کوهی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب و مغز انجام نشده است. این مطالعه به منظور تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی_اتانولی گیاه شقایق کوهی در مغز و قلب موش‌های صحرایی نر بالغ مبتلا به دیابت القایی با آلوکسان در مقایسه با داروی تجاری و مرسوم گلیبن‌کلامید انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون با کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC. ۱۳۹۸.۰۴۹ بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ انجام شد. حیوانات در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون خریداری شده و در آزمایشگاه حیوانات مورد مطالعه قرار گرفتند. حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی شاهد سالم، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره به دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن بدن (دیابتی+عصاره) و دیابتی تیمار با داروی گلیبن‌کلامید به دوز روزانه ۵ µg/kg (دیابتی+دارو) تقسیم شدند(۱۶و۱۵). گروه‌های ۲ تا ۴ با تزریق آلوکسان دیابتی شدند.

جمع‌آوری گیاه: نمونه‌های گیاه شقایق کوهی در اوایل فصل بهار از مراتع اطراف شهرستان کازرون جمع‌آوری شدند. اندام‌های هوایی و گل‌های گیاه بعد از خشک شدن در مجاورت تابش نور در آسیاب برقی پودر گردیده و جهت تهیه عصاره به آزمایشگاه انتقال داده شدند. پودر حاصله را به نسبت ۵۰/۵۰ با آب و الکل اتانول ۹۶ درصد و به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و سپس آن را صاف نموده و در مرحله آخر در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد گذاشته شد تا آب و الکل تبخیر گردد. عصاره حاصل به منظور مصرف خوراکی با سرم فیزیولوژی ترکیب و سوسپانسیون حاصل به صورت روزانه با کمک گاواژ به حیوانات خورانده می‌شد (۱۷). قرص‌های تجاری گلیبن‌کلامید (ناژو، ایران) نیز با کمک هاون پودر شده و در سرم فیزیولوژی تیتر شده با PH حدود ۶ حل گردید تا به مصرف خوراکی حیوانات برسد (۱۸).

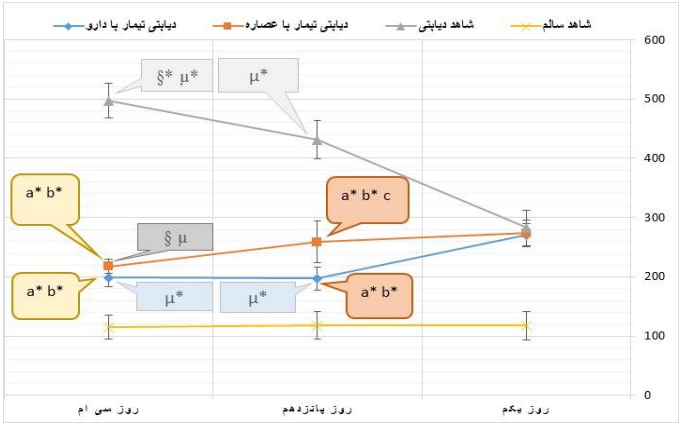
روش القای دیابت تجربی: با هدف افزایش اثر آلوکسان، هشت ساعت قبل از تزریق دارو حیوانات با دسترسی آزاد به آب در گرسنگی قرار گرفتند. القای دیابت با کمک تزریق تک دوز داخل صفاقی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده آلوکسان منوهیدرات (Sigma Alderich، آمریکا) انجام گرفت (۱۹). سپس خون‌گیری از انتهای دم انجام شد تا از دیابتی شدن آنها اطمینان حاصل شود. تایید ابتلاء به دیابت با انجام تست قند خون با کمک دستگاه گلوکومتر (Easygluco، کره جنوبی) صورت پذیرفت. ارقام بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان دیابتی تلقی شد (۱۷).

نمونه‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی: در پایان آزمایش حیوانات با اتر بیهوش و نمونه‌های قلب و مغز آنها خارج گردید. سپس ضمن خارج‌سازی خون موجود در بافت‌های هدف، وزن مساوی از هر کدام جدا شده، بر روی یخ با کمک دستگاه هموژنایزر (Edmund Buhler، آلمان)هموژنیزه شد؛ در ادامه با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (Sigma، آمریکا) در دور ۱۸۰۰۰G و به مدت۱۰ دقیقه، مایع رویی استحصال گردید. برای اندازه‌گیری پروتئین از روش برادفورد استفاده شد. منحنی استاندارد پروتئین با استفاده از آلبومین سرم گاو (BSA) به دست آمد (۲۰). فعالیت کاتالاز با استفاده از روش Aebi با دنبال نمودن تجزیه پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (series cecil 2040، انگلیس) اندازه‌گیری شد (۲۱). فعالیت آنزیم‌های GPX و SOD عصاره بافتی با استفاده از کیت‌های شرکت رندوکس (کیت‌های Randox، انگلیس) بر اساس دستور العمل کیت‌ها و با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج‌های به ترتیب۳۴۰ نانومتر و ۵۶۰ نانومتر و بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین تعیین گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری، آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست تعقیبی tukey برای آنزیم‌ها و آنالیز واریانس چندطرفه (MANOVA) برای گلوکز خون در نرم‌افزار SPSS ۲۰ صورت پذیرفت. $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

گلوکز خون: در گروه دیابتی تیمار با عصاره، تفاوت میانگین‌های بدست آمده طی روزهای اول ۲۷۳/۶±۲۲/۰۴ و پانزدهم ۲۵۹±۳۵/۰۷ تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما در مقایسه روزهای اول و سی‌ام ۲۱۷/۲۵±۱۱/۹۸ کاهش معنی‌داری مشاهده گردید

(p=۰/۰۲)؛ و نیز در مقایسه روزهای پانزدهم و سی‌ام نیز کاهش معنی‌دار بود (p=۰/۰۱). در گروه دیابتی تیمار با داروی گلیبن‌کلامید، در مقایسه روز اول ۲۷۰/۴±۱۹/۷ و پانزدهم ۱۹۷±۱۹/۱۱ کاهش معنی‌داری در سطح ثبت شد (p<۰/۰۰۱)، همچنین در مقایسه روزهای اول و سی‌ام ۱۹۸/۸۷±۱۵/۲۲ نیز اختلاف در همین سطح حفظ شد(p<۰/۰۰۱)؛ حال آنکه در مقایسه دو روز پانزدهم و سی‌ام تفاوت‌ها معنی‌دار نبود (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه میانگین غلظت گلوکز خون برحسب mg/dl در سه روز اندازه‌گیری در ۴ گروه (n=۸). µ: تفاوت معنی‌دار با روز اول در سطح (p<۰/۰۵)، §: تفاوت معنی‌دار با روز پانزدهم در سطح (p<۰/۰۵)، همچنین حروف لاتین بیانگر مقایسه میان گروه‌های تجربی با گروه‌های شاهد در روزهای مجزا: a: تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد سالم، b: تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد دیابتی، c: تفاوت معنی‌دار در میان گروه تجربی. *: تفاوت در معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۰۱)

در مقایسه میان گروه‌ها در روز اول، میانگین گروه شاهدسالم به طور معنی‌داری کمتر از تمامی گروه‌های دیابتی گزارش گردید (p<۰/۰۰۱). در روز پانزدهم، غلظت گلوکز در گروه شاهد دیابتی به طور معنی‌داری در مقایسه با هر دو گروه دیابتی تیمار با عصاره و دارو بالاتر بود (p<۰/۰۰۱)؛ در ادامه در مقایسه دو گروه تجربی، کاهش معنی‌داری در گروه تیمار با دارو نسبت به گروه تیمار با عصاره مشاهده شد (p=۰/۰۰۳). نهایتاً در روز سی‌ام، غلظت گلوکز در دو گروه دیابتی تیمار با عصاره و دیابتی تیمار با دارو معنی‌دار نبود.

سوپراکسید دیسموتاز(SOD): میزان SOD بافت قلبی در مقایسه گروه دیابتی+عصاره ۱۷/۰۵±۰/۹ و شاهد دیابتی ۱۲/۸۶±۲/۵ افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۰۱). اما در مقایسه دو گروه دیابتی+عصاره و دیابتی+دارو ۱۸/۲۲±۱/۲ تفاوت معنی‌داری مشاهد نگردید (جدول ۱). در بافت مغز، در مقایسه گروه شاهد دیابتی (۳/۴۴±۱/۴۷) و دیابتی+عصاره (۸/۷۹±۱/۴) افزایش فعالیت معنی‌داری نشان داده شد (p<۰/۰۰۱). نهایتاً، گروه تجربی دیابتی+عصاره نسبت به گروه دیابتی+دارو (۶/۷۷±۱/۷) به طور معنی‌داری فعالیت بیشتری را به ثبت رسانده بود (p=۰/۰۳)(جدول ۱).

کاتالاز (CAT): در بافت قلب، فعالیت این آنزیم در مقایسه گروه شاهد دیابتی (۱۱/۸۲±۱/۹۲) با هر دو گروه دیابتی+عصاره (۱۶/۱۶±۱) و دیابتی+دارو (۱۶/۵۷±۱/۵) تفاوت معنی‌داری داشت (p=۰/۰۰۱). اما از مقایسه دو گروه تجربی دیابتی+عصاره و دیابتی+دارو تفاوت معنی‌داری گزارش نگردید. در بافت مغز، فعالیت آنزیم کاتالاز، در مقایسه هر دو گروه دیابتی تیمار شده یعنی دیابتی+عصاره (۴/۶۴±۱/۲) و دیابتی+دارو (۳/۸۳±۱/۵) با گروه شاهد دیابتی ۰/۸۸±۰/۱۹ افزایش فعالیت مشاهد شده برای آنزیم به طور کاملا معنی‌داری افزایش داشته است (p<۰/۰۰۱). در نهایت، افزایش مشاهده شده برای گروه دیابتی+عصاره به طور معنی‌داری بیش از گروه دیابتی+دارو ثبت گردید (p=۰/۰۰۱) (جدول ۱).

گلوتاتیون پراکسیداز (GPX): فعالیت قلبی این آنزیم، در مقایسه گروه شاهد سالم (۵/۶۴±۱/۱) با دو گروه دیابتی+عصاره (۴/۲۵±۰/۹) و دیابتی+دارو (۴/۰۵±۰/۶) معنی‌دار نبود. اما در مقایسه گروه شاهد دیابتی (۱/۲۹±۰/۶۸) با دو گروه دیابتی+عصاره و دیابتی+دارو تفاوت در سطح معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). در مقایسه دو گروه تجربی یعنی دیابتی+عصاره و دیابتی+دارو تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. در بافت مغز، مقایسه گروه‌های تجربی از جمله دیابتی+عصاره (۴/۲۳±۰/۷) و دیابتی+دارو (۳/۶۹±۰/۴) نیز حاکی از معنی‌دار بودن میانگین گروه تحت تیمار با عصاره نسبت به دارو بود (p=۰/۰۳). (جدول ۱)

جدول ۱. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX). در بافت‌های قلب و مغز موش‌های صحرایی در چهار گروه (n=۸)

بافت	گروه آنزیم u/mg pro	شاهد سالم Mean±SD	شاهد دیابتی Mean±SD	دیابتی تیمار با عصاره (دیابتی+عصاره) Mean±SD	دیابتی تیمار با دارو (دیابتی+عصاره) Mean±SD
قلب	SOD	۱۸/۶۷±۱/۴	۱۲/۸۶±۲/۵ a*	۱۷/۰۵±۰/۹ ab*	۱۸/۲۲±۱/۲ b*
	CAT	۱۹/۰۱±۰/۹	۱۱/۸۲±۱/۹۲ a*	۱۶/۱۶±۱ ab*	۱۶/۵۷±۱/۵ ab*
	GPX	۵/۶۴±۱/۱	۱/۲۹±۰/۶۸ a*	۴/۲۵±۰/۹ b*	۴/۰۵±۰/۶ b*
مغز	SOD	۱۰/۴۵±۱/۳	۳/۴۴±۱/۴۷ a*	۸/۷۹±۱/۴ ab*	۶/۷۷ ± ۱/۷ abc
	CAT	۶/۱۱±۱/۱	۰/۸۸±۰/۱۹ a*	۴/۶۴±۱/۲ ab*	۳/۸۳ ± ۱/۵ a*b*c
	GPX	۵/۱۴±۰/۷	۱/۲۷±۰/۵۵ a*	۴/۲۳±۰/۷ ab*	۳/۶۹ ± ۰/۴ a*b*c

آزمون واریانس یک‌طرفه، حروف لاتین بیان‌گر تفاوت معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵)؛ a: تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد سالم، b: تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد دیابتی، c: تفاوت معنی‌دار با گروه تیمار با عصاره و علامت * بیان‌گر تفاوت معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۰۱)

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX در گروه تیمار با عصاره نسبت به گروه شاهد دیابتی مشاهده گردید، که این افزایش بطور کلی در مغز واضح‌تر و بطور ویژه برای آنزیم GPX قابل توجه‌تر بوده است. همچنین، مقایسه میانگین غلظت گلوکز خون بدست آمده از گروه دیابتی تیمار با عصاره شقایق کوهی با گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تیمار با دارو، خاصیت کاهندگی قندخون در این گیاه را تأیید می‌کند حال آنکه این خاصیت در قیاس با داروی گلیبن‌کلامید از اثر گذاری کم‌تری برخوردار است. این نتایج با مطالعه Cabo و همکاران مطابقت دارد (۱۴).

در توضیح این مشاهده می توان به مطالعه Gyurkovska و همکاران اشاره کرد که در پژوهش خود سرکوب مسیر JAK/STAT و سایتوکاین های IL-1، IL-6، IL-7، IL-12 و M-CSF و درنتیجه سرکوب التهاب را به گلوسین استخراج شده از گیاه شقایق کوهی نسبت دادند (۲۲). Gurzov و همکاران نیز اثبات کردند، اختلال در مسیر JAK/STAT در پانکراس، کبد، ماهیچه، و بافت چربی یک عامل مهم در ایجاد چاقی و دیابت می‌باشد (۲۳)؛ همچنین Yoshida و همکاران ضمن مشاهد غلظت بالاتر IL-12 و M-CFS در بیماران دیابتی، این فاکتورها را عامل ایجاد فیبروز دیواره عروقی با واسطه ماکروفاژها در این بیماران دانستند (۲۴).

در پژوهشی بر روی موش‌های دیابتی القاء شده با استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) نشان داده شد، که میزان مالون دی آلدئید (Malon dialdehyde; MDA) به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو بر اثر دیابت افزایش یافته و تجویز عصاره گیاهی میوه خارخاسک به طور معنی‌داری باعث کاهش میزان MDA و افزایش فعالیت آنزیم SOD بافت مغز موش‌های تیمار شده است (۲۵). از طرف دیگر، تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی موجب بروز عوارض در بیماری‌های متابولیک نظیر دیابت قندی شده و در نهایت منتهی به نوروپاتی و نورودژنراسیون می‌گردد (۲۶). در مطالعه حاضر نیز این اثر به خوبی در مغز گروه شاهد دیابتی شده دیده شد. ولی با تیمار حیوانات توسط عصاره شقایق کوهی این اثر تعدیل گردید. با توجه به وجود ترکیبات آلکالوئیدی و آنتی‌اکسیدانی گیاه شقایق کوهی می‌توان احتمال افزایش آنزیم‌های GPX ، SOD و CAT را در گروه‌های دریافت کننده عصاره ۵۰۰ توجیه کرد(۱۳و۱۲). در یک مطالعه نیز تجویز ویتامین E بعنوان آنتی‌اکسیدان به خوبی توانست این اثر را در بافت مغز تعدیل کند (۲۷).

در مطالعه حاضر در بافت قلب موش‌های شاهد دیابتی، میزان فعالیت هر سه آنزیم به طور قابل توجهی کاهش داشت. این یافته با نتایج مشابهی از سوی Tanoorsaz و همکاران، Doustar و همکاران و Kandhare و همکاران حمایت شده است (۳۰-۲۸). نشان داده شده که دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت قلب در طی دیابت به شدت تحت‌الشعاع قرار گرفته و سرکوب می‌شود (۳۱). محققان این پدیده که خود مقدمه‌ای بر آپوپتوز سلول‌های قلبی است را محصول وقوع فرآیند التهابی با حضور سایتوکاین‌هایی نظیر IL-1، TNF-α و IFN-γ می‌دانند (۳۲). اما در مقایسه نتایج گروه‌های تحت درمان با عصاره مشاهده گردید که، اثر محافظتی عصاره شقایق کوهی با داروی گلیبن‌کلامید برابری می‌کرد که این نتیجه با مطالعه Shirpoor و همکاران بر روی اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانی ویتامین E علیه آپوپتوز ناشی از دیابت بر بافت قلب موش‌های صحرایی مطابقت دارد (۳۳). از طرفی Mohamadifard و همکاران در مقایسه‌ای میان گیاهان خاکشیر، زرشک و سیلیمارین اعلام نمودند که سیلیمارین از خانواده فلاوونوئیدها در خواص آنتی‌اکسیدانی از مابقی برتر بوده است (۳۴). از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که، تجویز عصاره شقایق کوهی در دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خود به طور قطع با کاهش غلظت گلوکز خون و محتملاً با سرکوب التهاب به کاهش استرس اکسیداتیو و تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مغز و قلب موش‌های دیابتی کمک می‌نماید.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، پرسنل بخش تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه و تمام افرادی که دراجرای این تحقیق یاری رسان بودند، تشکر و قدردانی می گردد.

The Effect of Hydroalcoholic Extract of Glaucium Flavum on the Activity of Anti Oxidative Enzymes in the Heart and Brain of Alloxan Induced Diabetic Rats

A. Khoshvaghti (PhD)[1], Gh. Darya (PhD)*[2], F. Hashemi (DVM)[3], M. Kalantari (MSc)[4], K. Hushmandi (PhD)[5]

1.Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran
2.Department of Comparative Biomedical Science, Faculty of Advanced Medical Sciences and Technologies, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R.Iran
3.Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran
4.Department of Genetic Science, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Medical science Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R.Iran
5.Department of Epidemiology and Zoonosis, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 21; 2019; PP: 331-37
Received: Mar 6th 2019, Revised: May 26th 2019, Accepted: July 10th 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Oxidative stress is the connection between diabetes and neuropathies and micro vascular disorders. This study was designed to investigate the effect of hydroalcoholic extract of Glaucium Flavum on the tissue activity of antioxidant enzymes in the heart and brain of Alloxan induced diabetic rats.

METHODS: In this experimental study, 32 male rats were randomly divided into four groups of eight including control, diabetic, diabetic rats treated by Glaucium Flavum with dose of 500mg/kg and diabetic rats treated with Glibenclamide 5µg/kg. Diabetes was induced by single injection of 120mg/kg of Alloxan. After one month, activity of SOD, CAT and GPX were measured in the heart and brain tissues and analyzed.

FINDINGS: Cardiac activity of all three enzymes in the diabetic + extract group were significantly higher than diabetic control ($p<0.001$). Activity of SOD in brain had a significant difference in comparison to diabetic + extract (8.79±1.4) and diabetic +drug groups (6.77±1.7) ($p=0.03$). As the same, CAT activity in diabetic+extract group (4.64±1.2) was significantly higher than diabetic + drug group (3.83±1.5) ($p<0.001$). Similar to the two previous state, GPX activity in diabetic+extract group (4.23±0.7) was significantly higher than diabetic+drug group (3.64±0.4) ($p=0.03$).

CONCLUSION: The present study declared that yellow Glaucium Flavum extract can promote the main protective enzymatic mechanisms against diabetic induced oxidative stress in heart and brain. In addition, the effect of the extract was more successful than the effect of Glibenclamide and this effect was more pronounced in brain tissue.

KEY WORDS: *Diabetes Mellitus, Glaucium flavum, Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase, Brain, Heart, Rat, Alloxan.*

Please cite this article as follows:

Khoshvaghti A, Darya Gh, Hashemi F, Kalantari M, Hushmandi K. The Effect of Hydroalcoholic Extract of Glaucium Flavum on the Activity of Anti Oxidative Enzymes in the Heart and Brain of Alloxan Induced Diabetic Rats. J Babol Univ Med Sci. 2019; 21: 331-37.

***Corresonding Author: Gh. Darya(PhD)**
Address: Department of Comparative Biomedical Science, Faculty of Advanced Medical Sciences and Technologies, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R.Iran
Tel: +98 71 32305471
E-mail: ghdarya88@gmail.com

References

1.Leroith D, Taylor SI, Olefsky JM. Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.p. 1485-9.

2.West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabet Med. 2000;17(3):171-80 .

3.Zenker J, Ziegler D, Chrast R. Novel pathogenic pathways in diabetic neuropathy. Trends Neurosci. 2013; 36(8): 439-49 .

4.Arnold R, Kwai NC, Krishnan AV. Mechanisms of axonal dysfunction in diabetic and uraemic neuropathies. Clin Neurophysiol. 2013; 124(11): 2079-90 .

5.Guleria RS, Choudhary R, Tanaka T, Baker KM, Pan J. Retinoic acid receptor-mediated signaling protects cardiomyocytes from hyperglycemia induced apoptosis: Role of the renin-angiotensin system. J Cel Physiol. 2011; 226(5): 1292-307 .

6.Remme W. Pharmacological modulation of cardiovascular remodeling: a guide to heart failure therapy. Cardiovasc Drugs Ther. 2003; 17(4): 349-60 .

7.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.

8.Maurya AK, Tripathi S, Ahmed Z, Sahu RK. Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Euphorbia hirta in streptozotocin induced diabetic rats. Der Pharm Lettre. 2012; 4(2): 703-7.

9.Cortijo J, Villagrasa V, Pons R, Berto L, Martí-Cabrera M, Martinez-Losa M, et al. Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine: In vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. Br J Pharmacol. 1999; 127(7): 1641-51 .

10.Majd A, Mehrabian S, Khanafari A. Evaluating antimicrobial effect of Glaucium on Oral microflora. J Dent Med. 1996; 9(2): 57-66. [In Persian]

11.Bogdanov MG, Svinyarov I, Keremedchieva R, Sidjimov A. Ionic liquid-supported solid–liquid extraction of bioactive alkaloids. I. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in Glaucium flavum Cr. (Papaveraceae). Separa Purifica Tech. 2012; 97: 221-7.

12.Spasova M, Philipov S, Nikolaeva-Glomb L, Galabov A, Milkova T. Cinnamoyl-and hydroxycinnamoyl amides of glaucine and their antioxidative and antiviral activities. Bioorg Med Chem. 2008; 16(15): 7457-61 .

13.Bournine L, Bensalem S, Peixoto P, Gonzalez A, Maiza-Benabdesselam F, Bedjou F, et al. Revealing the anti-tumoral effect of Algerian Glaucium flavum roots against human cancer cells. Phytomedicine. 2013; 20(13):1211-8.

14.Cabo J, Cabo P, Jimenez J, Zarzuelo A. Glaucium flavum Crantz. Part v: Hypoglycemic activity of the aqueous extract. Phytotherapy Res. 1988; 2(4): 198-200 .

15.Kar A, Choudhary B, Bandyopadhyay N. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2003; 84(1): 105-8 .

16.Prince PS, Menon VP, Pari L. Hypoglycaemic activity of Syzigium cumini seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. J Ethnopharmacol. 1998; 61(1): 1-7 .

17.Ojo A, Adanlawo I, Ojo O. Ameliorative potentials of Saponins from Helianthus annuus roots on hepatoprotective and some kidney function indices of alloxan-induced diabetic rats. Pharmaco online. 2016; 3: 73-9.

18.Tawfeek HM, Roberts M, El Hamd MA, Abdellatif AAH, Younis MA. Glibenclamide Mini-tablets with an Enhanced Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Performance. AAPS PharmSciTech. 2018; 19(7): 2948-60.

19.Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia. 2008;51(2):216-26.

20.Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72(1-2): 248-54 .

21.Aebi H. Catalase. Methods in Enzymatic Analysis, Bergmeger HU (ed.). Verlag Chemie: Weinheim; 1974. p. 105: 673–678.

22.Gyurkovska V, Philipov S, Kostova N, Ivanovska N. Acetylated derivative of glaucine inhibits joint inflammation in collagenase-induced arthritis. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2015; 37(1): 56-62 .
23.Gurzov EN, Stanley WJ, Pappas EG, Thomas HE, Gough DJ. The JAK/STAT pathway in obesity and diabetes. FEBS J. 2016; 283(16): 3002-15.
24.Yoshida S, Kobayashi Y, Nakama T, Zhou Y, Ishikawa K, Arita R, et al. Increased expression of M-CSF and IL-13 in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy: implications for M2 macrophage-involving fibrovascular membrane formation. Br J Ophthalmol. 2015; 99(5): 629-34.
25.Roghani M, Arbab-Soleymani S. The effect of oral feeding of tribulus terrestris fruit on some markers of oxidative stress in the brain of diabetic rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2013; 21(2): 127-35. [In Persian]
26.Ienco EC, LoGerfo A, Carlesi C, Orsucci D, Ricci G, Mancuso M, et al. Oxidative stress treatment for clinical trials in neurodegenerative diseases. J Alzheimer's Dis. 2011; 24(Suppl 2): 111-26.
27.Tahmasebi k, Jafari M, Salehi M. Modulation of Diazinon-Induced Oxidative Stress by Vitamins E and C in rat Brain. J Guilan Uni Med Sci. 2017; 26(101): 66-73. [In Persian]
28.Tanoorsaz S, Behpour N, Tadibi V. Investigating the Effect of Mid-Term of Aerobic Exercise on Apoptosis Biomarkers in the Cardiomyocytes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Fasa Univ Med Sci 2018, 7(4): 488-97 . [In Persian]
29.Doustar Y, Mohajeri D, Rezaei A. Effect of grape seed extract on cardiomyocyte apoptosis in streptozotocin induced diabetic rats. MED SCI J ISLAMIC AZAD UNIV. 2011; 21(3): 168-74 .
30.Kandhare AD, Raygude KS, Ghosh P, Ghule AE, Bodhankar SL. Neuroprotective effect of naringin by modulation of endogenous biomarkers in streptozotocin induced painful diabetic neuropathy. Fitoterapia. 2012; 83(4): 650-9 .
31.Wang J, Song Y, Wang Q, Kralik PM, Epstein PN. Causes and characteristics of diabetic cardiomyopathy. The Revi Diab Stu. 2006; 3(3): 108 .
32.Cao JY, Wang H. Role of Fas-FasL in insulitis in nonobese diabetic mouse. Chin Med J 2004; 117(4): 615-17.
33.Shirpoor A, Salami S, Khadem-Ansari MH, Ilkhanizadeh B, Pakdel FG, Khademvatani K. Cardioprotective effect of vitamin E: rescues of diabetes-induced cardiac malfunction, oxidative stress, and apoptosis in rat. J Diabetes Complications. 2009;23(5):310-6.
34.Mohamadifard M, Nazem H, Mottaghipisheh J. The Effects of Copper Oxide Nanoparticles and Hydroalcoholic Extracts of Berberis Vulgaris, Descurainia Sophia and Silybum Marianum on Catalase, Glutathione Peroxidase, and Malondialdehyde Concentration in Male Diabetic Rats. J Babol Univ Med Sci. 2016; 18(3): 54-61. [In Persian]