

## عصاره برگ زیتون از بروز اختلالات حرکتی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین جلوگیری می‌کند

سعید اسماعیلی ماهانی\*، آیت کائیدی

بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

پذیرش: ۳۱ خرداد ۹۱

دریافت: ۹ اردیبهشت ۹۱

### چکیده

**مقدمه:** در متون علمی و طب سنتی از برگ‌های درخت زیتون به عنوان درمانی برای دیابت ذکر شده است و این گیاه دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و خاصیت محافظت‌کننده نورونی نیز دارد. در این مطالعه قصد داریم تا اثر احتمالی عصاره برگ زیتون را در جلوگیری از بروز نقایص حرکتی ناشی از نوروپاتی دیابتی را مورد بررسی قرار دهیم.

**روش‌ها:** در این مطالعه از تست راه پیمایی بر روی میله چرخان برای بررسی هماهنگی حرکتی در موش‌های دیابتی شده بوسیله استرپتوزوتوسین استفاده شد. موش‌های دیابتی به مدت سه هفته دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره برگ زیتون را به صورت خوراکی دریافت کردند. سطوح سرمی قند و انسولین با کیت‌های مربوطه سنجیده شد.

**یافته‌ها:** چهار هفته بعد از القای دیابت سطح سرمی گلوکز و انسولین به ترتیب افزایش و کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند ( $P < 0.001$ ). نتایج تست راه‌پیمایی بر روی میله چرخان نشان داد که موش‌های دیابتی دچار نقص عمده در هماهنگی حرکتی خود شدند ( $P < 0.001$ ). مدت زمان راه‌پیمایی حیوانات دیابتی به ۶۱/۲ درصد حیوانات سالم کاهش یافت در حالیکه موش‌های دیابتی که دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره را دریافت کرده بودند این مدت زمان به ۸۳/۶ درصد حیوانات سالم رسید. این دوز از عصاره سبب کاهش مختصری در میزان قند خون حیوانات دیابتی شد ولی بر میزان انسولین سرم تأثیری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که عصاره برگ زیتون می‌تواند نقش محافظت‌کننده در بروز نقایص و ناهماهنگی‌های حرکتی ناشی از دیابت در موش صحرایی داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** عصاره برگ زیتون، دیابت، اختلال حرکتی، موش صحرایی

### مقدمه

نشان می‌دهند که حتی مراحل اولیه ابتلا به دیابت نیز با بعضی انواع نوروپاتی همراه می‌باشد [۲]. چندین علت برای انواع سندرم‌های نوروپاتیک در بیماران دیابتی شناسایی شده است. هایپرگلیسمی به عنوان عنصر اصلی پیدایش و پیشرفت نوروپاتی دیابتی بوده و عوارض عروق ریز و مویرگی نیز در آن دخیل می‌باشند [۵]. شواهد زیادی نشان می‌دهند که محیط هایپرگلیسمیک باعث خون‌رسانی ناقص مویرگ‌ها به اعصاب و همین‌طور کارکرد بیش از حد متابولیسمی میتوکندری‌های این اعصاب و استرس اکسیداتیو در آن‌ها می‌شود [۱۹]. استرس

نوروپاتی یک عارضه شایع و زیان‌آور هم در دیابت نوع یک و هم نوع دو می‌باشد. شیوع نوروپاتی در بیماران که به تازگی به دیابت مبتلا شده‌اند ۸ درصد و در کسانی که به مدت طولانی به این بیماری مبتلا بوده‌اند تا ۵۰ درصد می‌باشد. شواهد زیادی

semahani@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

ناشی از القاء دیابت تجربی در موشهای بزرگ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دهیم.

## مواد و روش ها

**حیوانها:** در این تحقیق از موشهای صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانها از حیوانخانه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شدند. حیوانها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و به صورت گروه های ۴ تایی در قفسه های مجزا نگهداری شدند. مدت زمان ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و دمای هوای ۲۵ درجه در محل نگهداری حیوانها رعایت شد. ۵ روز قبل از شروع آزمایشات حیوانها به خوبی دست آموز شدند تا به هنگام انجام تست مورد نظر، استرس در آنها بوجود نیاید. پروتکل تحقیقاتی مورد تأیید کمیته اخلاق مرکز تحقیقات علوم اعصاب (EC/KNRC/89-27) قرار گرفت.

**تهیه عصاره برگ زیتون:** برگهای زیتون (*Olea europaea*، زیرگونه *Sevillano*) از باغچه های تحقیقاتی کشت شده در شهرستان خرم آباد استان لرستان جمع آوری شدند. برگها از سرشاخه های سالم و بدون آسیب دیدگی چیده شدند. عصاره اتانولی برگ زیتون در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی لرستان تهیه شد. ابتدا برگهای زیتون در هوا خشک شدند. ۲۰۰ گرم از برگهای خشک شده توسط آسیاب به ذرات پودری تبدیل شدند. پودر تهیه شده دو مرتبه به وسیله اتانول ۸۰٪ عصاره گیری شد؛ سپس الکل حاوی عصاره فیلتر شده و مایع فیلتر شده به وسیله دستگاه خشک کن (با کاهش فشار و استوانه چرخان) آب گیری شد. عصاره اتانولی باقی مانده به صورت خشک فریز شد. جهت استفاده در آزمایشات هر بار مقدار مورد نظر عصاره وزن و در سرم فیزیولوژیک حل شد [۸].

**القای دیابت در حیوانها:** دیابت به وسیله تزریق دوز ۵۵ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) حل شده در سیترات بافر ۰/۱ mol/L به صورت داخل صفاقی انجام گرفت. جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوانها، قند سرمی آنها یک هفته پس از تزریق STZ اندازه گیری شد. قند خون بالای mg/dl

اکسیداتیو منجر به آسیب میتوکندریایی و به تبع آن تحلیل رفتن آکسون نورون ها می شود [۱۶]. در شرایط هیپرگلیسمیک تولید مقادیر زیاد گونه های باز فعال اکسیژن (ROS) و گونه های باز فعال نیتروژن (RNS)، سرانجام از ظرفیت آنتی اکسیدانی طبیعی سلول فراتر رفته و در نتیجه لیپیدها، پروتئینها و DNA سلولی را دچار آسیب و حتی آپوپتوز می کند. این آسیبها دست آخر عملکرد طبیعی و هماهنگی سلولی را به هم می ریزند [۳]. مشخص گردیده است که بیماران دیابتی دچار نوروپاتی دارای علائمی مانند درد، بی حسی، گزگز کردن انگشتان، از دست دادن حس و تخریب نورون های حرکتی می باشند [۵]. علاوه بر اینها بیماران دچار ضعف عضلانی در دستها و پاها می شوند و حتی بسته به اینکه کدامیک از ریشه های عصبی درگیر شوند می توان اختلالات حسی و حرکتی را در عضلات قفسه سینه و صورت نیز مشاهده کرد. تا به امروز استراتژی های درمانی جهت جلوگیری از بروز عوارض دیابت منجمله نوروپاتی های حسی و حرکتی و درمان آنها ناکارآمد می باشد.

درخت زیتون (*Olea europaea*, Oleacea)، نماد سنتی ثروت، وفور نعمت، شادمانی و صلح می باشد. میوه درخت زیتون و برگهای آن دارای سابقه تاریخی درمانی، تغذیه ای و تشریفاتی می باشد [۲۴]. اثرات درمانی برگ زیتون در زمینه های مختلف روز به روز برای دانشمندان بیشتر اثبات می شود. در مطالعات گوناگونی اثرات آنتی اکسیدانی، هیپوگلیسمیک، ضد فشارخون، ضد آرترو اسکروز و ضد میکروبی برگ زیتون گزارش شده است [۷]. اخیراً نیز مشخص شده است که عصاره برگ زیتون نقش محافظتی در ایسکمی مغزی داشته [۱۸] و خاصیت ضد دردی نیز دارد [۸]. همچنین در مطالعات انجام شده انسانی اثرات محافظت نورونی عصاره برگ زیتون در بیماری MS و دیگر ناهنجاری های نورونی دیده شده است [۲۰]. عصاره اتانولی برگ زیتون مدت زمان شروع مرحله یک تشنج ناشی از پنتیلن تترازول را به تأخیر می اندازد [۲۵]. مطالعه قبلی ما نشان داد که عصاره برگ این گیاه از آسیب سلولی ناشی از قند بالا در سلولهای شبه نورونی PC12 جلوگیری می کند و از شدت دردهای نوروپاتی و بروز اختلالات حسی در موشهای دیابتی می کاهد [۱۴]. در این مطالعه قصد داریم تا اثر عصاره برگ زیتون را در کاهش بروز نقایص حرکتی

میزان انسولین سرم در گروه های آزمایشی با روش کمی لومینسانس ایمونواسی (CLIA) اندازه گیری شد [۱۳]. حساسیت سنجش  $2 \mu\text{IU/ml}$  بوده و  $50$  میکرولیتر سرم استفاده شد. رفرنس های پایه انسولین در این سنجش از صفر تا  $200$  میکرو واحد در میلی لیتر بودند. میکروپلیت ها با آنتی بادی مونوکلونال انسولین پوشیده شده بودند. بعد از اضافه کردن نمونه ها، آنتی بادی دوم و شستشو حدود  $100$  میکرولیتر محلول کمی لومینسانس اضافه می شد و بعد از  $5$  دقیقه نمونه ها توسط دستگاه خوانش گر کمی لومینسانس خوانده می شدند.

**بررسی هماهنگی حرکتی:** جهت بررسی هماهنگی حرکتی حیوان های مورد آزمایش، از تست راهپیمایی بر روی میله چرخان استفاده شد [۴]. طی دوره تحقیق، دو مرتبه حیوان ها روی میله چرخان دستگاه قرار گرفتند. یک مرتبه قبل از شروع آزمایش و یک مرتبه هم پس از چهار هفته (روز آخر آزمایش). بعد از اینکه حیوان ها توانستند خود را روی میله چرخان نگه دارند دستگاه به مدت سه دقیقه روشن شد. مدت زمانی که حیوان می توانست خود را روی میله چرخان نگه دارد (که شاخصی از هماهنگی حرکتی آن ها می باشد) ثبت گردید.

**آنالیز آماری:** نتایج به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه شدند. میانگین داده ها در گروه های مختلف آزمایشی به کمک آزمون یک طرفه ANOVA و به دنبال آن آزمون Tukey تجزیه و تحلیل شد.  $P < 0.05$  به عنوان حداقل سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

## یافته ها

### اثر عصاره برگ زیتون بر سطح گلوکز سرم و وزن موش های صحرایی دیابتی

در پایان آزمایشات یعنی هفته چهارم پس از تزریق STZ غلظت گلوکز سرم رت های دیابتی  $19/38 \pm 40.4/33$  mg/dl بود که به طور معنی داری نسبت به حیوان های کنترل ( $6/36 \pm 97/50$  mg/dl،  $P < 0.001$ ) افزایش یافته بود. غلظت گلوکز سرم حیوان های دیابتی شده که حلال دریافت کرده بودند معادل با غلظت سرم حیوان های دیابتی بود. حیوان های دیابتی که به مدت ۳ هفته (هر روزه) دوز  $300$  mg/kg عصاره برگ زیتون دریافت کرده بودند، غلظت گلوکز سرمشان نسبت

به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [۱۲].  
**تیمار حیوان های دیابتی با عصاره برگ زیتون:** توجه به وزن حیوان ها، عصاره (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان) از طریق لوله دهانی - معدی در دوزهای  $100$ ،  $300$  و  $500$  میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان، یک هفته پس از القاء دیابت و هر روزه، به مدت ۳ هفته به حیوان ها خورانیده شد. موش های صحرایی در گروه های ۶ تا ۸ تائی به صورت زیر دسته بندی شدند:

گروه کنترل: حیوان های سالم و بدون هیچگونه درمان با عصاره برگ زیتون.

گروه دیابت: حیوان های دیابتی بدون هیچگونه درمان با عصاره برگ زیتون.

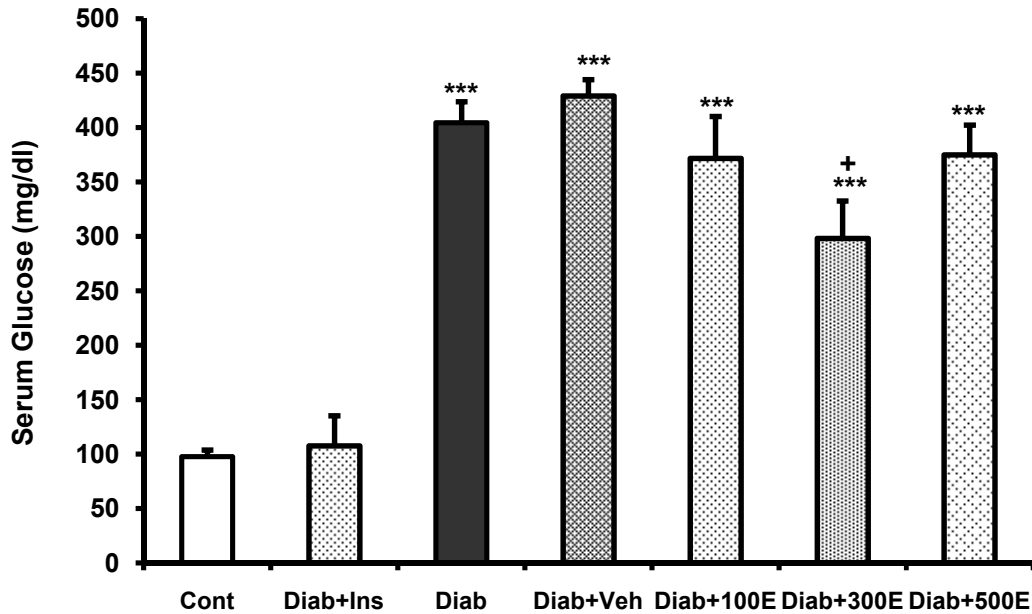
گروه دیابت که حلال عصاره برگ زیتون (سالین) را به مدت سه هفته دریافت می کردند.

گروه دیابت و عصاره که دوزهای ذکر شده را به مدت ۳ هفته دریافت می کردند.

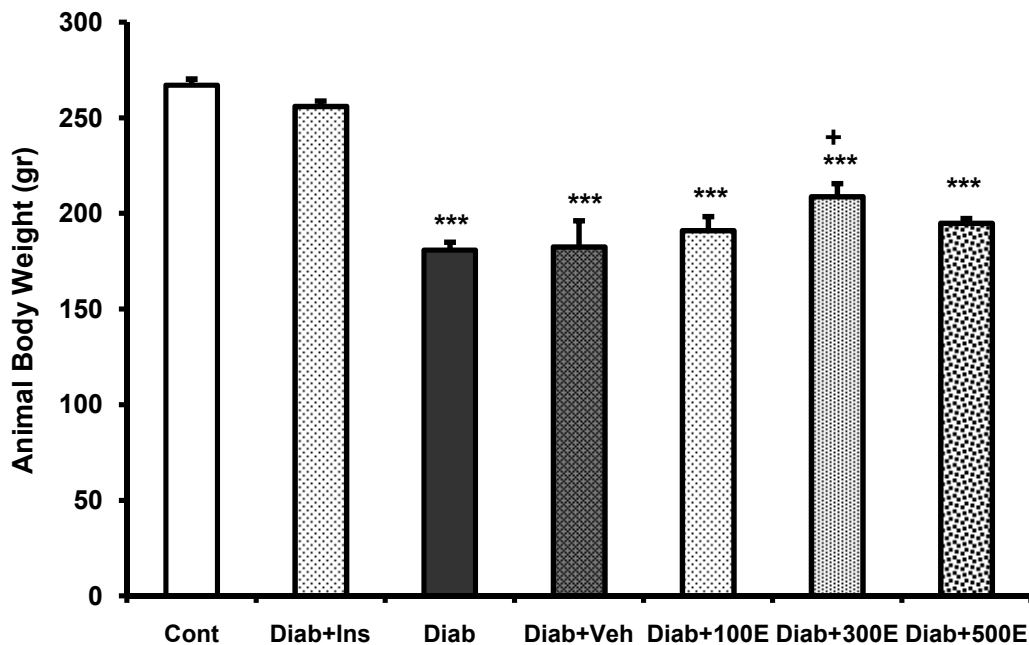
گروه دیابتی کنترل مثبت که انسولین را در دوز  $4$  واحد بر کیلوگرم روزانه به مدت ۳ هفته دریافت می کردند.

**سنجش میزان انسولین و قند خون:** چهار هفته بعد از تجویز STZ رت ها تحت بیهوشی با گاز  $\text{CO}_2$  کشته شده و سرم خون آنها جدا و تا زمان سنجش در فریزر و در دمای منهای بیست درجه سانتی گراد نگهداری شد. غلظت گلوکز سرم بصورت آنزیمی [۲۳] و با استفاده از کیت پراکسیداز - اکسیداز گلوکز (GOD-POD kit, Pars Azmoon Co., Iran) سنجیده شد. اساس این روش اکسیداسیون گلوکز توسط گلوکز اکسیداز (GOD) می باشد که تولید  $\text{H}_2\text{O}_2$  و اسید گلوکونیک می کند و در نهایت میزان  $\text{H}_2\text{O}_2$  در حضور پراکسیداز (POD) سنجیده می شود.  $100$  میکرولیتر از محلول آماده شده کیت با  $30$  میکرولیتر از سرم مخلوط شده و در دمای  $37$  درجه انکوبه می شد. میزان رنگ تولید شده در طول موج  $540$  نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر در مقابل محلول بلانک خوانده می شد. محلول بلانگ بجای سرم حاوی آب مقطر بود. غلظت گلوکز سرم بر اساس معادله Beer-Lambert محاسبه می شد که در آن  $A_s$  میزان جذب محلول استاندارد،  $A_t$  جذب نمونه ها و  $C_s$  غلظت استاندارد می باشد.

$$[\text{CG (mg/ml)} = \text{AT/AS} \times \text{CS (100 mg/100 ml)}]$$



شکل ۱- تاثیر عصاره برگ زیتون بر میزان گلوکز سرم در حیوان‌های دیابتی. مقادیر به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  نشان داده شده‌اند ( $n=6-8$ ).  $P < 0.001$ : \*\*\* اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه کنترل (Cont) و همینطور نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده انسولین (Diab+Ins).  $P < 0.05$ : + اختلاف معنی داری در مقایسه با سطح گلوکز سرم در مقایسه با گروه دیابتی (Diab) و همینطور دیابتی که حلال (Diab+Veh) دریافت کرده بود.

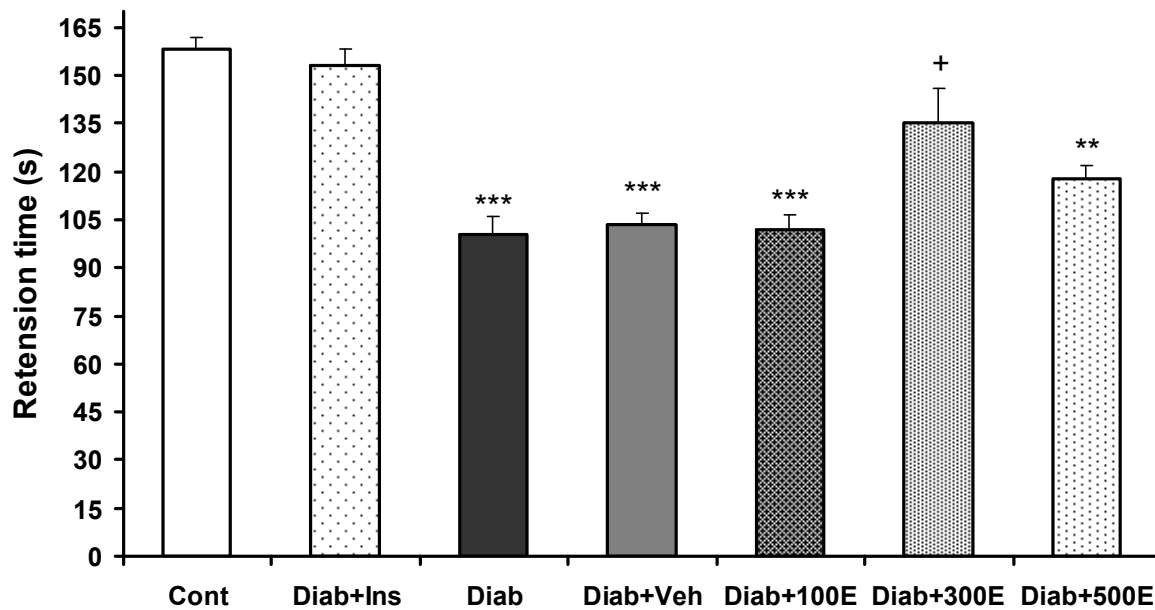


شکل ۲- تاثیر عصاره برگ زیتون بر میزان وزن حیوان‌های دیابتی شده. مقادیر به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  نشان داده شده‌اند ( $n=6-8$ ).  $P < 0.001$ : \*\*\* اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه کنترل (Cont).  $P < 0.05$ : + اختلاف معنی داری در مقایسه با وزن حیوانات گروه دیابتی (Diab).

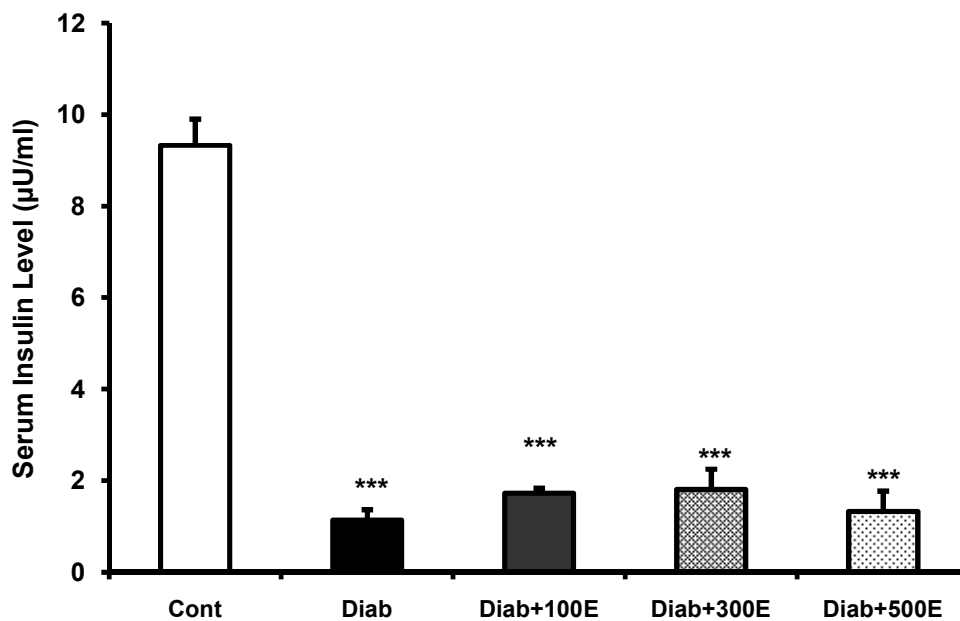
نداشت (شکل شماره ۱).

شکل شماره ۲ نشان دهنده وزن حیوان‌های گروه‌های کنترل، دیابتی و دیابت درمان شده با عصاره در هفته چهارم بعد از تزریق STZ می‌باشد. همانگونه که در شکل نشان داده شده

به مقدار آن در گروه دیابتی کاهش نشان داد ( $P < 0.05$ ). هرچند در حیوان‌های دیابتی که دوز ۱۰۰ و ۵۰۰ mg/kg و عصاره برگ زیتون را دریافت کرده بودند غلظت گلوکز سرم نسبت به حیوان‌های دیابتی (بدون درمان با عصاره) تغییری



**شکل ۳-** تاثیر عصاره برگ زیتون بر نقایص حرکتی ایجاد شده در حیوان های دیابتی. مقادیر به صورت  $mean \pm SEM$  نشان داده شده اند ( $n=6-8$ ).  $P < 0.001$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ : اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل (Cont) و همینطور نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده انسولین (Diab+Ins).  $P < 0.05$ : اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه دیابتی (Diab) و همینطور دیابتی که حلال (Diab+Veh) دریافت کرده بود.



**شکل ۴-** تاثیر عصاره برگ زیتون بر سطوح انسولین سرم در حیوان های دیابتی. مقادیر به صورت  $mean \pm SEM$  نشان داده شده اند ( $n=6-8$ ).  $P < 0.001$ : اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه کنترل.

دیابت + دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره (Diab+300E) نسبت به وزن حیوان های گروه دیابت (Diab) در میزان بالاتری قرار دارد (شکل شماره ۲).

است وزن حیوان های گروه دیابت و گروه دیابت + حلال و دوزهای مختلف عصاره طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کمتر می باشد ( $P < 0.001$ ). از طرفی وزن حیوان های گروه

غذا را نشان دادند. آنان پیشنهاد کردند که ترکیبات لوتئولین و اولئانولیک اسید موجود در عصاره، دارای اثر مهارى بر افزایش قند خون بعد از صرف غذا در موش‌های دیابتی می‌باشند. این گروه همچنین اثر عصاره برگ زیتون بر پاسخ‌های گلاسیمیک افراد تغذیه شده با برنج پخته شده را مطالعه کردند. آنان افراد را به دو گروه بر اساس قند خون قبل از غذا خوردن (نرمال و در خط مرز دیابت) تقسیم کردند. بعد از خوراندن شدن برنج پخته شده به همراه عصاره برگ زیتون، میزان افزایش گلوکز خون گروه خط مرزی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته بود [۱۵]. در مطالعه دیگری گزارش شده است عصاره برگ زیتون، مقدار گلوکز سرمی موش‌های تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب را کاهش می‌دهد. همچنین میزان تحمل به گلوکز نیز در این موش‌ها افزایش یافته بود [۲۱].

در مطالعه‌ای دیگر که به مقایسه اثر پایین آورندگی قند خون عصاره برگ زیتون و داروی گلی‌بنکلامید پرداخته بود، نشان داده شد تجویز روزانه عصاره برگ زیتون با دوز ۰/۵ g/kg به موش‌های دیابتی شده به وسیله STZ، نسبت به گروه دیابتی درمان شده با گلی‌بنکلامید، باعث می‌شود گلوکز سرم کاهش بیشتری پیدا کند. همچنین میزان انسولین سرم نیز در گروه دیابتی درمان شده با عصاره نسبت به گروه درمان شده با گلی‌بنکلامید به مقدار طبیعی خود نزدیک‌تر بوده است. طی دوره این آزمایش، رت‌های طبیعی که عصاره دریافت کرده بودند هیچ‌گونه تغییر معنا داری در مقدار گلوکز و انسولین سرم از خود نشان ندادند [۶]. علاوه بر تحقیقات انجام شده روی خواص کاهندگی قند خون عصاره برگ زیتون، برخی از ترکیبات پلی‌فنلی موجود در آن نیز به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفته‌اند. از آن جمله می‌توان به ترکیب اولئوروپئین اشاره کرد که عمده‌ترین پلی‌فنل موجود در عصاره برگ زیتون می‌باشد. در این باره Al-Azzawie و Alhamdani گزارش کردند میزان قند خون خرگوش‌های دیابتی شده که به مدت هشت هفته با اولئوروپئین تیمار شده بودند، نسبت به گروه دیابتی درمان نشده به طور معنی داری کاهش یافت [۱].

مکانسیمی که برای توجیه اثر کاهندگی قند خون به وسیله عصاره می‌توان پیشنهاد کرد تحریک افزایش باز جذب گلوکز در بافت‌ها می‌باشد. گزارش شده است که اولئوروپئین (ترکیب اصلی عصاره برگ زیتون) موجب تحریک افزایش باز جذب

## نقایص حرکتی القاء شده توسط دیابت و اثر

**عصاره برگ زیتون بر آن:** تست راهپیمائی بر روی میله چرخان برای بررسی هماهنگی حرکتی حیوان‌های دیابتی انجام شد (شکل ۳). حیوان‌های دیابتی دچار نقصان معنی داری در نگهداری خود بر روی میله چرخان در طول زمان شدند ( $P < 0/001$ ) به طوری که در حیوان‌های دیابتی توانایی نگه داشتن خود بر روی میله چرخان به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با حیوان‌های کنترل کاهش یافت (۶۱/۲ درصد کنترل). حیوان‌های گروه دیابت + دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره توانستند به میزان ۸۳/۶ درصد نسبت به گروه کنترل خود را بر روی میله چرخان نگه داری کنند ( $P < 0/05$ ). عصاره برگ زیتون با دوز ۱۰۰ mg/kg تأثیر معنی داری بر نقایص حرکتی القاء شده توسط دیابت نداشت و حیوان‌های این گروه علائمی شبیه گروه دیابت از خود نشان دادند.

## اثر عصاره برگ زیتون بر سطح انسولین سرم در

**موش‌های صحرائی دیابتی:** در پایان آزمایشات غلظت انسولین سرم در گروه‌های آزمایشی نشان داد که در رت‌های دیابتی (Diab) سطح انسولین به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود. تجویز دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون اثری بر سطح کاهش یافته انسولین نداشت (شکل شماره ۴).

## بحث

### اثر عصاره برگ زیتون بر گلوکز سرم حیوان‌های

#### دیابتی:

همانگونه که در بخش نتایج این تحقیق نشان داده شد، غلظت گلوکز سرمی حیوان‌های دیابتی که به مدت ۳ هفته (هر روز) با دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره برگ زیتون دریافت کرده بودند، نسبت به میزان آن در آغاز دوره آزمایش کاهش یافته بود. این یافته با بسیاری از گزارشات قبلی در زمینه اثر کاهش دهنده قند خون توسط عصاره برگ زیتون یا ترکیبات تشکیل دهنده آن سازگاری دارد [۷]. از طرفی عصاره هیچ اثری بر سطح کاهش یافته انسولین در حیوانات دیابتی نداشت.

در این زمینه Komaki و همکاران تأثیر عصاره برگ زیتون بر مقدار گلوکز خون رت‌های دیابتی شده بعد از مصرف

سلول‌ها جلوی تخریب نورونی و آپوپتوز سلولی را بگیرند [۱]. یکی دیگر از عوارض دیابت و محیط هیپرگلیسمیک که منجر به آپوپتوز نورونی می‌گردد، ورود زیاد کلسیم به نورون‌ها از طریق کانال‌های کلسیمی نوع L می‌باشد [۱۶]. بنابراین می‌توان با جلوگیری از ورود زیاد کلسیم از طریق این نوع کانال‌ها به سلول‌های نورونی از مرگ آنها جلوگیری کرد. Scheffler و همکارانش با استفاده از آزمایشات ولتاژ کلمپ نشان دادند که عصاره برگ زیتون به عنوان یک آنتاگونیست کانال کلسیمی نوع L عمل می‌کند و به طور کامل مانع عمل کانال کلسیمی نوع L می‌شود [۲۱]. علاوه بر این Gilani و همکاران نیز نشان دادند که عصاره برگ زیتون دارای خواص مهارکننده کانال‌های کلسیمی می‌باشد [۹]. لذا می‌توان انتظار داشت که عصاره برگ زیتون با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، کاهشدهنده قند خون، ضد آپوپتوتیک و بلوکری کانال‌های کلسیمی توانایی حفظ سلول را در برابر آسیب ناشی از گلوکز بالا را داشته باشد و به این طریق نیز از بروز نوروپاتی دیابتی و نقایص اعصاب حرکتی ناشی از آن جلوگیری می‌کند.

عصاره برگ زیتون نقش موثری در کاهش بروز نوروپاتی دیابتی و نقایص اعصاب حرکتی ناشی از دیابت دارد و خواص کاهشدهنده قند خون، آنتی‌اکسیدانی، ضد آپوپتوزی و بلوکری کانال‌های کلسیمی آن می‌تواند حداقل جزئی از مکانیسم‌های محافظت‌کننده نورونی این عصاره باشد.

### سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی لرستان و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و در قالب بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای آیت کائیدی انجام شده است.

گلوکز در بافت‌های محیطی می‌شود [۱۱]. با توجه به این‌که علت اصلی مشکلات به وجود آمده در دیابت و بویژه نوروپاتی دیابتی، قند خون بالا می‌باشد، پس می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که عصاره برگ زیتون با کاهش نسبی قند خون در حیوان‌های دیابتی از مشکلات پیش آمده به وسیله گلوکز زیاد جلوگیری می‌کند. اما این همه ماجرا نیست، زیرا که این اثر عصاره کامل نیست و قند خون به حالت طبیعی خود برنگشته است. از دیگر علل بروز نوروپاتی و نقایص حرکتی ناشی از آن، افزایش بیان ژن‌های التهابی و بروز التهاب در اعصاب حسی و حرکتی می‌باشد. گزارش شده است که ترکیب اصلی و گلیکوزیدی اولئوروپئین (فراوانترین پلی‌فنول موجود در برگ زیتون) عصاره برگ زیتون توانایی کاهش بیان عوامل التهابی IL-1B، TNF- $\alpha$  و COX-2 را داشته است [۱۰]. این عوامل در بروز التهاب نورونی و به تبع آن نقایص حرکتی دخیل می‌باشند. همچنین عوامل اکسیدان مانند ROS و NOS شرایط هیپرگلیسمی و افزایش متابولیسم سلولی افزایش می‌یابند. این فرایند باعث بروز آسیب به DNA و سایر پروتئین‌های حیاتی سلول می‌شوند که در نهایت آغازگر فرایند آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شوند. مشخص شده است که مرگ نورونی و آپوپتوز عصبی نیز از عوامل بوجود آورنده نوروپاتی حسی دیابتی می‌باشد [۱۳، ۱۴] و عصاره موجود سبب مهار آپوپتوز در سلول‌های هیپرگلیسمیک و همین‌طور در نخاع حیوانات دیابتی می‌شود [۱۴]. ترکیبات فنلی گیاهان می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی عمل کرده و جلوی فعالیت تخریبی فاکتورهای اکسیدانی را بگیرند. گزارش شده است که عصاره برگ زیتون دارای ترکیبات عمده پلی‌فنلی (مثل اولئوروپئین، تیروزول و کافئیک اسید) می‌باشد که می‌تواند با زدودن مواد اکسیدان و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی ذاتی

## References

- [1] Al-Azzawie HF, Alhamdani MS. Hypoglycemic and antioxidant effect of Oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci* 78 (2006) 1371-1377.
- [2] Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 28 (2005) 956-962.
- [3] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414 (2001) 813-820
- [4] Cartmell SM, Gelgor LM. A revised rotarod procedure for measuring the effect of antinociceptive drugs on motor function in the rat. *J Pharmacol Methods* 26

- (1991) 149-59.
- [5] Edwards LJ, Vincent MA, Hsinlin TC, Feldman LE. Diabetic neuropathy: Mechanisms to management. *Pharmacol Ther* 120 (2008) 1-34.
- [6] Eidi A, Eidi M, Darzi R. Antidiabetic effect of olea europaea l. in normal and diabetic rats. *Phytother Res* 23 (2009) 347-350.
- [7] El NS, Karakaya S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutr Rev* 67 (2009) 632-638.
- [8] Esmacili-Mahani S, Rezaeezadeh-Roukerd M, Esmailpour K, Abbasnejad M, Rasoulilian B, Sheibani V, Kaeidi A, Hajjalizadeh Z. Olive (*Olea europaea L.*) leaf extract elicits antinociceptive activity, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats. *J Ethnopharmacol* 132 (2010) 200-205.
- [9] Gilani AH, Khan AU, Shah AJ, Connor J, Jabeen Q. Blood pressure lowering effect of olive is mediated through calcium channel blockade. *Int J Food Sci Nutr* 56 (2005) 613-620.
- [10] Gong D, Geng C, Liping J, Jun C, Hiroyuki Y, Laifu Z. Effects of Hydroxytyrosol-20 on Carrageenan induced Acute Inflammation and Hyperalgesia in Rats. *Phytother Res* 23 (2009) 646-650.
- [11] Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez M. J, Utrilla M. P, Jimenez J, Osuna I. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med* 58 (1992) 513-515.
- [12] Hajjalizadeh Z, Esmacili-Mahani S, Sheibani V, Kaeidi A, Atapour M, Abbasnejad M. Changes in the gene expression of specific G-protein subunits correlate with morphine insensitivity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuropeptides* 44 (2010) 299-304.
- [13] Kaeidi A, Esmacili-Mahani S, Abbasnejad M, Sheibani V, Rasoulilian B, Hajjalizadeh Z, Pasban-Aliabadi H. Satureja khuzestanica attenuates apoptosis in hyperglycemic PC12 cells and spinal cord of diabetic rats. *J Nat Med* in press 2012.
- [14] Kaeidi A, Esmacili-Mahani S, Sheibani V, Abbasnejad M, Rasoulilian B, Hajjalizadeh Z, Afrazi S. Olive (*Olea europaea L.*) leaf extract attenuates early diabetic neuropathic pain through prevention of high glucose-induced apoptosis: in vitro and in vivo studies. *J Ethnopharmacol* 136 (2011) 188-96.
- [15] Komaki E, Yamaguchi S, Maru I. Identification of anti-alpha-amylase components from olive leaf extracts. *Food Sci Technol Res* 9 (2003) 35-39.
- [16] Leininger GM, Edwards JL, Lipshaw MJ, Feldman EL. Mechanisms of disease: mitochondria as new therapeutic targets in diabetic neuropathy. *Nat Clin Pract Neurol* 2 (2006) 620-628.
- [17] Li F, Obrosova GI, Abatan O, Tian D, Stevens MJ. Taurine replacement attenuates hyperalgesia and abnormal calcium signaling in sensory neurons of STZ-D rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288 (2005) E29-E36.
- [18] Mohagheghi F, Bigdeli M, Rasoulilian B, Hashemi P, Rashidipour M. The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. *Phytomedicine* 15 (2011) 170-175.
- [19] Obrosova IG, Drel VR, Oltman CL, Mashtalir N, Tibrewala J, Groves JT. Role of nitrosative stress in early neuropathy and vascular dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293 (2007) 1645-1655.
- [20] Ortega RM. Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Public Health Nutr* 9 (2006) 1136-40.
- [21] Sato H, Genet C, Strehle A. Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun* 362 (2007) 793-798.
- [22] Scheffler A, Rauwald HW, Kampa B, Mann U, Mohr FW, Dhein S. *Olea europaea* leaf extract exerts L-type  $Ca^{2+}$  channel antagonistic effects. *J Ethnopharmacol* 120 (2008) 233-240.
- [23] Solati J, Soleimani N. Antidiabetic effects of ethanolic extract of *Ziziphus vulgaris L.* in streptozotocin-induced diabetic adult male Wistar rats. *Physiol Pharmacol* 14 (2010) 174-180.
- [24] Soni MG, Burdock GA, Christian MS, Bitler CM, Crea R. Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods. *Food Chem Toxicol* 44 (2006) 903-915.
- [25] Zendedel M., Keramati K, Garavand S. Effect of intracerebroventricular injection of olive leaf extract on PTZ-induced seizures in male rats. *Physiol Pharmacol* 15 (2011) 108-115.