Archive of SID

مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۴، شمـاره‌ی ۱۰۵، مهر و آبان ۱۳۹۵، صفحات ۵۳ تا ۶۶

بررسی اثرات ضد دیابتی، ضد آترواسکلروزی و آنتی اکسیدانی عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر در موش صحرایی دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول

راضیه صاحب نظر[۱]، الهام رضازاده[۲]، دکتر همایون صدرایی[۳]، دکتر محمدتقی محمدی[۴]

نویسنده‌ی مسوول: گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران Mohammadimohammadt@bmsu.ac.ir

دریافت: ۹۴/۵/۶ پذیرش: ۹۴/۷/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: *مطالعات گذشته اثرات کاهندگی عصاره‌ی لیموترش و سیر را به‌طور جداگانه بر سطح گلوکز و کلسترول خون نشان داده‌اند. در مطالعه‌ی حاضر اثرات ضددیابتی، ضدآترواسکلروزی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر در موش‌های صحرایی دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول مورد بررسی قرار گرفت.*

روش‌بررسی: *مطالعه در پنج گروه موش صحرایی نر ویستار ($n=۴۰$) انجام گرفت: کنترل، دیابتی، دیابتی و پرکلسترول، دیابتی و عصاره، دیابتی و پرکلسترول و عصاره. دیابت با تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین (۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) القا شد. رژیم غذایی پرکلسترول با افزودن ۴ درصد کلسترول و ۱ درصد اسیدکولیک به غذای استاندارد تهیه شد. گروه‌های درمان، عصاره‌ی ترکیبی (۱ میلی‌لیتر، دو بار در روز) به مدت ۶۰ روز از راه دهان دریافت کردند. در پایان، میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) قلب و تغییرات آسیب‌شناختی شریان آئورت اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها: *گلوکز خون به‌طور معنی‌داری در گروه‌های دیابتی (>۲۰۰میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و کلسترول خون در موش‌های دیابتی و پرکلسترول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۵±۱۸۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر). عصاره‌ی ترکیبی به‌طور معنی‌داری گلوکز خون گروه دیابتی و عصاره را (۷±۱۴۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در مقایسه با گروه دیابتی کاهش داد ($P<۰/۰۵$). این عصاره همچنین به‌طور معنی‌داری کلسترول خون گروه دیابتی و پرکلسترول و عصاره را (۱۰±۱۰۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در مقایسه با گروه دیابتی و پرکلسترول کاهش داد ($P<۰/۰۵$). مقدار MDA قلب در گروه‌های دیابتی و دیابتی و پرکلسترول بالا بود و عصاره‌ی ترکیبی سطح MDA هر دو گروه درمان شده را کاهش داد. نهایتا، آسیب به دیواره‌ی شریان آئورت و ضایعه‌ی آترواسکلروز تنها در گروه دیابتی و پرکلسترول مشاهده گردید.*

نتیجه‌گیری: *بر اساس یافته‌های ما، عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر قادر بود از تشکیل آترواسکلروز و آسیب شریان آئورت از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، گلوکز و کلسترول خون در موش‌های صحرایی دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول جلوگیری نماید.*

واژگان کلیدی: کلسترول بالا، آترواسکلروز، لیمو، سیر، دیابت شیرین

مقدمه

دیابت شیرین یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز است. بر اساس مطالعات انجام شده، شیوع جهانی این بیماری رو به افزایش است. هم اکنون ۲۴۶ میلیون نفر به دیابت مبتلا هستند و پیش‌بینی می‌شود این رقم تا سال

۱- کارشناس ارشد علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران، تهران

۲- دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران، تهران

۳- دکترای تخصصی علوم تشریحی، استاد گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران، تهران

۴- دکترای تخصصی فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشیار دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران

www.SID.ir

Archive of SID

۲۰۲۵ به ۳۸۰ میلیون نفر برسد که ۷/۱ درصد از کل جمعیت جهان را شامل خواهد شد (۱). سالانه ۳/۹۶ میلیون مرگ در جهان به علت عوارض ناشی از دیابت گزارش می‌شود (۲). یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت آترواسکلروز است، به‌طوری که خطر این عارضه در بیماران مبتلا به دیابت ۳ تا ۵ برابر بیش از افراد غیر دیابتی است (۳). بر اساس مطالعات اپیدمیولوژی عواملی مانند افزایش LDL، کاهش HDL، فشار خون بالا، دیابت شیرین، رژیم غذایی پرچرب و کم تحرکی سبب افزایش شیوع آن می‌گردد (۴). در این میان ۸۰ درصد بیماران مبتلا به دیابت به علت عوارض ناشی از آترواسکلروز می‌میرند (۵). هیپرگلیسمی ایجاد شده در دیابت با تولید محصولات گلیکوزیله، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و بروز استرس اکسیداتیو در بدن باعث القای التهاب در بافت‌ها و دیواره‌ی شریان‌ها شده و جذب LDL را توسط سلول‌های اندوتلیال افزایش می‌دهد. همچنین این رادیکال‌ها سبب اکسیداسیون LDL و تشکیل oxLDL می‌شوند. تجمع oxLDL در انتیمای شریان‌ها، جذب آن توسط ماکروفاژ و در نهایت تشکیل سلول‌های کف آلود (Foam cell) از اولین مراحل ایجاد پلاک آترواسکلروز می‌باشند (۷و ۶و ۳). بر این اساس یافتن راه کارهای مناسب جهت جلوگیری از آسیب‌های دیابت با توجه به شیوع بالا و عوارض ناشی از آن از اهمیت بسزایی برخوردار است.

گیاهان به دلیل دارا بودن خواص درمانی همواره مورد توجه انسان بوده‌اند. در این میان، سیر از گیاهانی است که از قدیم به‌علت خواص مفید ضد میکروبی و کاهندگی چربی خون مصرف زیادی داشته و امروزه نیز در تحقیقات مختلف خواص دارویی مفید آن به اثبات رسیده است. طبق تحقیقات انجام شده مصرف سیر باعث کاهش کلسترول خون و جلوگیری از تجمع پلاکتی می‌گردد (۸). در مطالعه‌ای، عیدی و همکاران نشان دادند مصرف ۰/۱، ۰/۲۵و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز در موش صحرایی سبب کاهش چشمگیری در سطح کلسترول خون گردید (۹). گیاه سیر دارای اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی بوده، و تحقیقات فارماکولوژی نشان داده‌اند تیوسولفینات‌های (آلیسین) موجود در سیر رادیکال‌های آزاد را به دام انداخته و سبب مهار پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردند (۱۰). لیموترش نیز از دیگر گیاهان با خواص دارویی است که خواص درمانی بسیاری دارا می‌باشد. این گیاه محتوی مواد مغذی بسیار مهمی نظیر فلاونوئیدها، ویتامین‌ها، لیمونوئیدها و کارتنوئیدها است (۱۱). میوه‌ی لیمو طبق یافته‌های مطالعات به دلیل خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی در پیشگیری از بیماری‌هایی نظیر دیابت و چربی خون بالا توصیه شده است (۱۲). لیمونوئیدهای موجود در این گیاه نیز دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و کاهندگی کلسترول خون می‌باشند (۱۳). به‌طوری که در یک مطالعه، چانگ و همکاران نشان دادند عصاره‌ی لیموترش به مقدار ۰/۰۱۵ میلی‌گرم در روز به مدت ۶ هفته سبب کاهش قابل ملاحظه در میزان گلوکز و چربی خون گردید (۱۴).

بر اساس مطالعات به نظر می‌رسد عصاره‌ی لیموترش و سیر هر کدام به تنهایی اثرات ضد دیابتی خوبی داشته باشند. با این حال هیچ مطالعه‌ای که اثرات ضد دیابتی و ضد آترواسکلروزی ترکیب لیموترش و سیر را نشان دهد انجام نشده است. همچنین گونه‌ای از عصاره‌گیری سنتی از این دو گیاه (ارایه شده در قسمت روش‌ها) در برخی مناطق ایران وجود دارد که گزارش شده می‌تواند سبب رفع علایم انسداد عروق کرونری (دردهای قفسه سینه) شده و در مواقعی توسط پزشکان به برخی بیماران قلبی-عروقی توصیه می‌گردد. بنابراین مطالعه‌ی حاضر جهت بررسی اثرات ضد دیابتی، ضد آترواسکلروزی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر در موش‌های صحرایی دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول طراحی گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

روش بررسی

در تحقیق حاضر که یک مطالعه‌ی مداخله‌ای- تجربی بود، از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (محدوده‌ی سنی ۳ تا ۴ ماهگی) تهیه شده از مرکز پژوهشی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم استفاده گردید. در تمامی آزمایش‌ها، شرایط پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی تعیین‌شده توسط کمیته‌ی اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله رعایت شد. حیوانات در طی آزمایش بدون داشتن محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا، در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در طی آزمایش نگهداری شدند.

برای ایجاد دیابت قندی نوع اول، از استرپتوزوتوسین (STZ) استفاده شد. بدین منظور پس از بیهوش کردن حیوانات توسط اتر، محلول از پیش‌تهیه شده استرپتوزوتوسین به مقدار ۳۷ میلی‌گرم به‌ازای یک کیلوگرم وزن بدن حیوان از راه ورید جانبی دم تزریق شد. ۷ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، حیوانات دارای گلوکز خون بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان حیوان دیابتی انتخاب و وارد دوره‌ی آزمایش گردیدند (۱۵). لازم به ذکر است حیوانات گروه اول معادل حجم محلول استرپتوزوتوسین تزریقی، نرمال سالین (به‌عنوان حلال) به صورت داخل وریدی دریافت نمودند.

جهت تهیه رژیم غذایی پر کلسترول به رژیم غذایی استاندارد موش صحرایی کلسترول (۴ درصد وزن غذای موش) و اسید کولیک به منظور جذب بیشتر و بهتر کلسترول (۱ درصد وزن غذای موش) افزوده شد. رژیم غذایی پر کلسترول همزمان با تزریق استرپتوزوتوسین برای گروه دیابتی و پرکلسترول و همچنین گروه دیابتی، پرکلسترول و عصاره آغاز گردید (۱۶). جهت تهیه‌ی عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر تعداد ۳۰ حبه (معادل ۳۰۰ گرم) سیر را پوست گرفته و همراه با ۵ عدد لیموترش متوسط (معادل ۵۰۰ گرم) که قبلا هسته‌های آن خارج شده در همزن برقی قرار گرفت. پس از له شدن همه محتویات، ترکیب به دست آمده به مدت ۲ دقیقه تا دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ترکیب مورد نظر در داخل یک شیشه ریخته شد و در یخچال نگهداری گردید. این عصاره بر اساس مطالعات انجام شده در این زمینه و الگوی استفاده شده توسط هر حیوان، دو نوبت در روز و در هر نوبت به میزان ۱ میلی‌لیتر از طریق گاواژ استفاده گردید (۱۷). لازم به ذکر است حیوانات گروه‌های بدون درمان معادل حجم عصاره‌ی نرمال سالین را از راه دهان دریافت کردند.

برای انجام پژوهش حاضر، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر پس از بررسی ظاهری از نظر سلامت جسمانی به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: حیوانات این گروه موش‌های صحرایی غیر دیابتی بوده که به مدت ۸ هفته از رژیم غذایی روتین تغذیه می‌کردند.

۲- گروه دیابتی: در حیوانات این گروه دیابت قندی با تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین ایجاد شده و به مدت ۸ هفته از رژیم غذایی روتین تغذیه می‌کردند.

۳- گروه دیابتی و پرکلسترول: در حیوانات این گروه دیابت قندی با تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین ایجاد شده و به‌مدت ۸ هفته از رژیم غذایی پرکلسترول تغذیه می‌کردند.

۴- گروه دیابتی و عصاره‌ی ترکیبی: در حیوانات این گروه دیابت قندی با تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین ایجاد شده، به مدت ۸ هفته از رژیم غذایی روتین تغذیه و عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر از راه دهان دریافت می‌کردند.

۵- گروه دیابتی، پرکلسترول و عصاره‌ی ترکیبی: در حیوانات این گروه دیابت قندی با تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین ایجاد شده، به مدت ۸ هفته از رژیم غذایی پرکلسترول تغذیه و عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر از راه دهان دریافت می‌کردند.

www.SID.ir

Archive of SID

جهت اندازه‌گیری پارامترهای خونی مورد نظر، نمونه‌گیری در ابتدای پژوهش و سپس زمان قربانی کردن حیوانات انجام شد. بدین منظور خون‌گیری در ابتدای پژوهش با استفاده از پیپت پاستور و از شبکه وریدی چشمی و در زمان قربانی کردن حیوانات مستقیما از قلب صورت گرفت. نمونه‌های خونی پس از گذشت ۲۰ دقیقه و ایجاد لخته نسبی، به‌مدت ۱۵ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سرم جدا شده، در میکروتیوپ ریخته شد و جهت سنجش میزان گلوکز و کلسترول خون در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پارامترهای بیوشیمیایی کلسترول و گلوکز سرم توسط کیت‌های شرکت پارس‌آزمون، مورد سنجش قرار گرفتند.

جهت اندازه‌گیری گلوکز وکلسترول سرم از کیت تشخیص کمی با روش نورسنجی (پارس آزمون، تهران، ایران) استفاده شد. در این آزمایش با استفاده از سمپلر به مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه یا استاندارد، به ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول آماده کیت خریداری شده اضافه و ۲۰ دقیقه بعد جذب نوری نمونه‌ها یا استاندارد در طول موج ۵۴۶ نانومتر برای گلوکز و ۵۰۰ نانومتر برای کلسترول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL-2501, England) قرائت شد. در نهایت غلظت گلوکز و کلسترول سرم بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

غلظت محلول استاندارد (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) × [جذب نوری استاندارد/ جذب نوری نمونه]= غلظت گلوکز و کلسترول سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

در پایان آزمایش تمام حیوانات، تحت بیهوشی عمیق قرار گرفته و بافت قلب به‌همراه شریان آئورت خارج گردید. بافت قلب به‌سرعت به‌داخل نیتروژن مایع و سپس فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شد، درحالی که شریان آئورت جهت تثبیت در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. در روز آزمایش، بافت قلب پس از رفع انجماد، به‌دقت توزین و به نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات هموژنیزه شده و پس از آن، نمونه‌ها در ۱۴۰۰۰g و ۴درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. از محلول رویی برای سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) استفاده گردید.

برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (مالون دی آلدئید) از روش Satho استفاده شد (۱۸). به ۵۰۰ میکرولیتر محلول رویی، ۱/۵ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک ۴۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژ گردید؛ سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی، برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک ۰/۶۷ درصد به آن افزوده و به‌مدت ۳۰ دقیقه درون بن‌ماری جوش قرار داده شد؛ سپس ۲ میلی‌لیتر n-بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفوژ شد. میزان جذب نوری محلول رویی صورتی‌رنگ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت MDA، با استفاده از ۱، ۱، ۳ و ۳ تترا اتوکسی‌پروپان به‌عنوان استاندارد، تعیین و MDA بر حسب میکروگرم بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (۱۹).

برای تعیین غلظت پروتئین، از روش برادفورد استفاده شد (۲۰). حجم معینی از عصاره‌ی بافتی با رقت مناسب برداشته و به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد؛ سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول برادفورد با رقت ۳: ۱ به آن اضافه شد و به‌مدت ۱۰دقیقه اینکوبه گردید؛ سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر، جذب آن قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد، ابتدا محلول یک‌میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آلبومین سرم گاوی تهیه شد؛ سپس غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از آن ساخته و به‌عنوان غلظت‌های استاندارد استفاده شد.

به‌منظور بررسی تغییرات آسیب شناختی دیواره شریان آئورت، ابتدا نمونه‌های مورد نظر به‌مدت دو هفته جهت تثبیت، در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از آن مراحل پردازش بافت و قالب‌گیری با پارافین، طبق روش‌های معمول

www.SID.ir

Archive of SID

آماده‌سازی بافت انجام گرفت. در مرحله‌ی بعد برش‌گیری توسط دستگاه میکروتوم (RM2145LEICA, Germaney) با ضخامت ۵ میکرومتر انجام شده و پس از انتقال مقاطع تهیه‌شده برروی لام، رنگ‌آمیزی با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) صورت گرفت. در نهایت مقاطع تهیه‌شده پس از طی مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی و مانت‌کردن، با دقّت توسط دستگاه میکروسکوپ نوری (Nikon) مورد ارزیابی قرار گرفت، پس از آن به وسیله‌ی دوربین مخصوص میکروسکوپ متصل به کامپیوتر (CMEX)، از نقاط مورد نظر (دیواره‌ی شریان) عکسبرداری شده و شاخص‌های آسیب به شریان و آترواسکلروز آئورت مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج آماری به‌دست‌آمده در این تحقیق به صورت میانگین± خطای استاندارد (Means±SEM) ارایه شده است. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS۲۱ استفاده گردید. با توجه به این نکته که داده‌های مورد نظر از توزیع نرمال برخوردار بودند، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey و LSD برای مقایسه‌ی داده‌ها استفاده شد. در ضمن برای مقایسه‌ی زمانی داده‌های گلوکز و کلسترول در شروع و پایان آزمایش از آزمون Paired T-test استفاده گردید. در تمامی موارد، اختلاف بین گروه‌ها با P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شده است.

یافته ها

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود میانگین قند سرم در گروه کنترل در ابتدای آزمایش ۱۱±۱۲۷ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در طول مدت آزمایش تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت. میزان قند سرم حیوانات گروه دیابتی یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین و تثبیت دیابت ۱۸±۲۳۵ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (P<۰/۰۵) و تا پایان آزمایش در میزان آن هیچگونه تغییری قابل ملاحظه‌ای حاصل نشد. میانگین قند سرم حیوانات گروه دیابتی و پرکلسترول در ابتدا و انتهای آزمایش به ترتیب ۷۷±۲۷۳ و ۳۷±۲۳۱ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). در حیوانات گروه دیابتی و عصاره میزان گلوکز سرم پس از القای دیابت ۳۶±۲۲۸ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (P<۰/۰۵) و دریافت عصاره سبب کاهش معنادار آن (۷±۱۴۷ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه دیابتی گردید (P<۰/۰۵). میانگین گلوکز سرم حیوانات گروه دیابتی، پرکلسترول و عصاره یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین ۴۳±۲۲۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). دریافت عصاره سبب کاهش میزان گلوکز سرم این حیوانات (۳۶±۱۹۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه دیابتی پرکلسترول گردید، که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

همان طور که در جدول ۱ مشخص شده است میزان کلسترول سرم در گروه کنترل در ابتدای آزمایش ۳±۷۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در طول مدت آزمایش تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت. میانگین کلسترول سرم حیوانات گروه دیابتی در پایان آزمایش ۱۰±۹۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل به دلیل دریافت رژیم غذایی استاندارد در تمام طول دوره آزمایش تغییر محسوسی نداشت. در حیوانات گروه دیابتی و پرکلسترول یک هفته پس از شروع رژیم غذایی پرکلسترول میزان کلسترول سرم ۲۰±۱۳۳ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: مقادیر گلوکز و کلسترول خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) حیوانات مورد مطالعه در شروع و خاتمه‌ی آزمایش

گروه‌های آزمایشی	گلوکز خون (mg/dl)		کلسترول خون (mg/dl)	
	شروع آزمایش	پایان آزمایش	شروع آزمایش	پایان آزمایش
کنترل	۱۲۷±۱۱	۱۴۴±۱۱	۷۰±۳	۸۷±۲۲
دیابتی	۲۳۵±۱۸*	۲۴۵±۲۰*	۱۰۰±۱۰	۹۲±۱۰
دیابتی و پرکلسترول	۲۷۳±۷۷*	۲۳۱±۳۷*	۱۳۳±۲۰*	۱۸۷±۱۵*
دیابتی و عصاره	۲۲۸±۳۶*	۱۴۷±۷$	۱۰۵±۱۴	۷۸±۱۱
دیابتی، پرکلسترول عصاره	۲۲۰±۴۳*	۱۹۰±۳۶	۱۲۸±۸*	۱۰۲±۱۰#

داده‌ها به‌صورت Means ±SEM نمایش داده شده است

****نشانگر اختلاف معنادار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)***

$نشانگر اختلاف معنادار در مقایسه با گروه دیابتی (P<۰/۰۵)

#نشانگر اختلاف معنادار در مقایسه با گروه دیابتی و پرکلسترول (P<۰/۰۵)

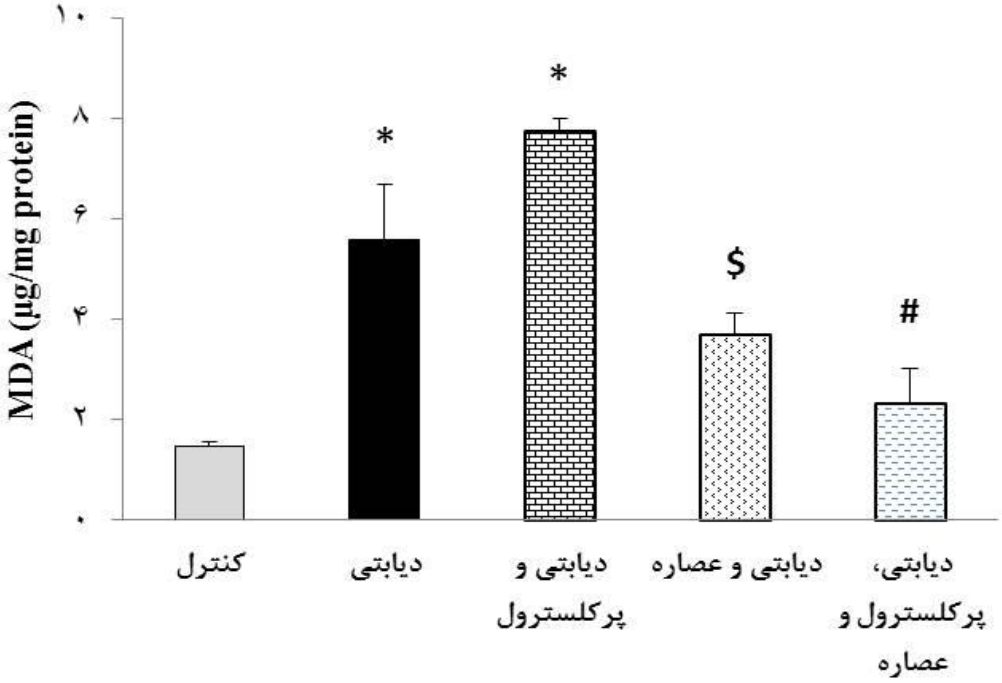
رژیم غذایی این حیوانات سبب افزایش هرچه بیشتر میزان کلسترول سرم در هفته‌های بعد شد به نحوی که در پایان آزمایش، میانگین میزان کلسترول سرم این حیوانات به ۱۸۷±۱۵ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر رسید که در مقایسه با میزان کلسترول سرم ابتدای آزمایش ۲۵ درصد افزایش داشت. این میزان در مقایسه با میزان کلسترول خون گروه کنترل در روز ۶۰ (۸۷±۲۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) نیز از نظر آماری افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). یک هفته پس از القای دیابت، میانگین کلسترول سرم حیوانات گروه دیابتی و عصاره ۱۰۵±۱۴ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت، و دریافت عصاره نیز نتوانست پس از ۶۰ روز در غلظت کلسترول سرم این حیوانات تغییر محسوسی ایجاد نماید. میانگین میزان کلسترول سرم حیوانات گروه دیابتی، پرکلسترول و عصاره در ابتدای آزمایش ۱۲۸±۸ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). درمان با عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر در این گروه سبب کاهش معنی‌دار کلسترول سرم روز ۶۰ آزمایش (۱۰۲±۱۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه دیابتی پرکلسترول گردید (P<۰/۰۵).

در نمودار ۱ نتایج تغییرات میزان MDA بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. میانگین میزان MDA بافت قلب در گروه دیابتی ۵/۵۹±۲/۱۰ میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین و گروه دیابتی و پرکلسترول ۷/۷۲ ±۰/۲۷ میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین بود که در مقایسه با گروه کنترل (۱/۴۸±۰/۰۹ میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین) افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). دریافت عصاره ترکیبی لیموترش و سیر به مدت ۶۰ روز سبب کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌دار میزان MDA گروه دیابتی و عصاره (۰/۴۴±۳/۶۷ میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با گروه دیابتی گردید (P<۰/۰۵). همچنین مصرف این عصاره‌ی ترکیبی توانست میزان MDA بافت قلب گروه دیابتی، پرکلسترول و عصاره (۰/۷۱±۲/۳۲ میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین) را در مقایسه با گروه دیابتی و پرکلسترول به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (P<۰/۰۵).



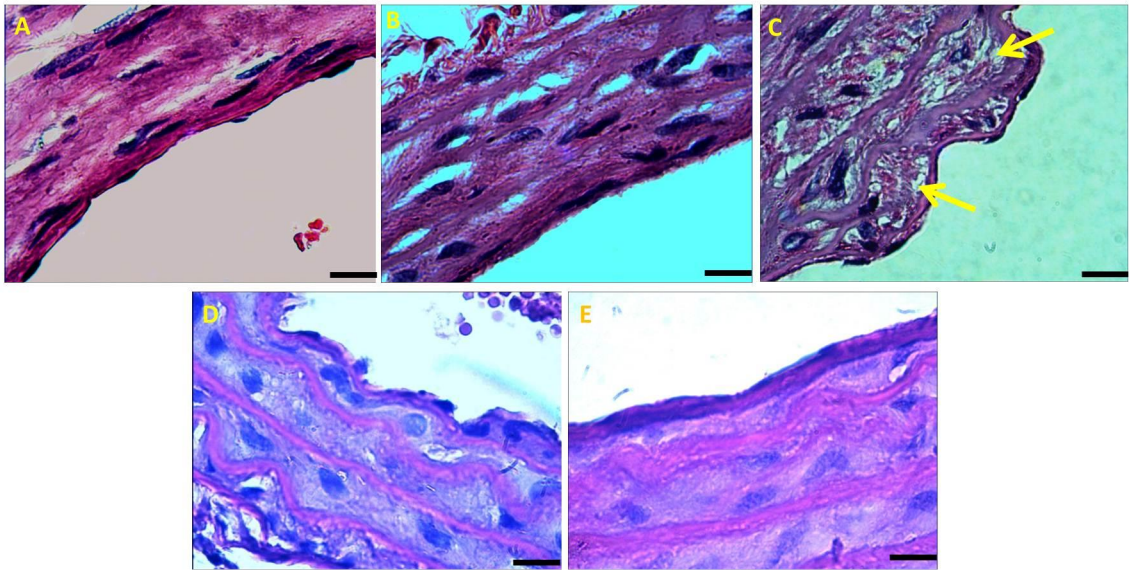
نمودار ۱: میانگین میزان مالون دی آلدئید (MDA) بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

داده ها به صورت Means ±SEM نمایش داده شده است
**** نشانگر اختلاف معنادار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)***
$ نشانگر اختلاف معنادار در مقایسه با گروه دیابتی (P<۰/۰۵)
 # نشانگر اختلاف معنادار در مقایسه با گروه دیابتی و پرکلسترول (P<۰/۰۵)

در شکل ۱ برش عرضی شریان آئورت با بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر در گروه‌های مختلف آزمایشی نشان داده شده است. در بررسی‌های کیفی دیواره شریان آئورت گروه کنترل تمام لایه‌ها سالم به نظر می‌رسند. در گروه دیابتی تغییراتی که دال بر تشکیل پلاک آترواسکلروزی باشد مشاهده نگردید. در حالی که در گروه دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول (دیابتی و پرکلسترول) برآمدگی لایه انتیما به‌همراه تجمع چربی در زیر غشای اندوتلیال که می‌تواند حاکی از تشکیل احتمالی پلاک آترواسکلروزی باشد مشاهده گردید. اما در دیواره‌ی شریان آئورت گروه‌های دیابتی و عصاره و همچنین دیابتی، پرکلسترول و عصاره این تغییرات مشاهده نگردید.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: تصاویر نشان دهنده‌ی برش عرضی شریان آئورت با بزرگنمایی ۱۰۰۰ در حیوانات گروه‌های کنترل (A)، دیابتی (B)، دیابتی و پرکلسترول (C)، دیابتی و عصاره (D) و دیابتی، پرکلسترول و عصاره (E) می باشند که با روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شده است. نوک پیکان تجمع چربی زیر غشای اندوتلیال را نشان می‌دهد. بار برابر با ۱۰۰ میکرومتر می‌باشد.

بحث

آترواسکلروز از مهم‌ترین عوارض دیابت بوده و علت آن تغییراتی است که به دلیل هیپرگلیسمی مزمن در دیواره شریان‌های بزرگ و عروق کرونر قلب اتفاق می‌افتد (۷و۶و۳). در مطالعه‌ی حاضر مدلی از دیابت نوع اول به همراه رژیم غذایی پرکلسترول جهت القای علایم دیابت از جمله هیپرگلیسمی و کلسترول خون بالا استفاده گردید. به‌طوری که در حیواناتی که علایم هیپرگلیسمی به همراه کلسترول خون بالا داشتند، علاوه بر افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و بروز استرس اکسیداتیو در بافت قلب، تجمع چربی در لایه زیرین انتیمای شریان آئورت نیز مشاهده گردید. استفاده از عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر در این حیوانات توانست غلظت گلوکز و کلسترول خون را کاهش داده و مانع تجمع چربی در لایه ی زیرین انتیمای شریان آئورت شده و از ضایعات بافتی شریان آئورت و تشکیل احتمالی پلاک آترواسکلروز جلوگیری نماید. همچنین مصرف این عصاره‌ی ترکیبی در طول دوره آزمایش توانست تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو (MDA) بافت قلب را کاهش دهد.

افزایش تولید محصولات گلیکوزیله، بروز استرس اکسیداتیو، اکسیداسیون LDL و تجمع آن در لایه‌ی زیرین انتیمای شریان‌های مستعد آترواسکلروز، از جمله رویدادهایی هستند که در حین دیابت به دلیل گلوکز خون بالا و مزمن صورت می‌پذیرند (۷و۶و۳). بنابراین کاهش گلوکز خون نقش مهمی در کاهش عوارض عروقی دیابت ایفا می‌کند. با توجه به یافته‌های این پژوهش درمان با عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر توانست سبب کاهش غلظت گلوکز خون گردد. این نتایج با یافته‌های محققین دیگر که هر یک عصاره‌ی لیموترش و سیر را به تنهایی مورد مطالعه قرار داده‌اند همخوانی دارد. در مطالعه‌ای عیدی و همکاران نشان دادند که عصاره‌ی سیر با مقادیر مختلف به مدت ۱۴روز با افزایش سطح انسولین سرم باعث کاهش چشمگیر سطح گلوکز خون می‌گردد (۹). در تحقیق دیگر مسجدی و همکاران گزارش کردند مصرف

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره‌ی سیر به مدت ۶ هفته سطح گلوکز خون را کاهش می‌دهد (۲۱). بر اساس مطالعات خاصیت کاهندگی گلوکز خون سیر به دلیل ترکیبات سولفوره موجود در این گیاه مانند آلیسین است که طبق نظر محققین این ترکیبات با افزایش سنتز گلیکوژن در کبد و یا تحریک ترشح انسولین در پانکراس سبب کاهش غلظت گلوکز خون می‌گردند (۲۱و۹). همسو با نتایج ما چانگ و همکاران نشان دادند استفاده از عصاره‌ی لیموترش به میزان ۰/۰۱۵ میلی‌گرم در روز و به‌مدت ۶ هفته می‌تواند با افزایش میزان انسولین سرم سطح گلوکز خون را کاهش دهد (۱۴). در بررسی این نتایج مشخص شده لیموترش باعث کاهش بیان گلوکز ۶- فسفاتاز و فسفوانول پیرووات کربوکسی کیناز کبدی شده و همچنین سبب افزایش بیان گلوکوکیناز کبدی و GULT4 در بافت‌های محیطی می‌گردد (۱۴). به نظر می‌رسد لیموترش با افزایش دریافت و متابولیسم گلوکز در کبد و همچنین مهار گلوکونئوژنز باعث کاهش غلظت گلوکز خون می‌شود.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد استفاده از عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر می‌تواند میزان کلسترول خون را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد. از آن جایی که افزایش چربی‌های خون به‌ویژه کلسترول، از علل مهم ایجاد آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی- عروقی است کاهش کلسترول خون توسط این عصاره نقش بسیار مهمی در کاهش بروز حوادث قلبی- عروقی بر عهده خواهد داشت (۲۲). نتایج چند تحقیق نشان می‌دهد عصاره‌ی سیر باعث کاهش کلسترول خون می‌گردد. در تحقیق آدلر و همکاران مصرف ۹۰۰ میلی‌گرم سیر در روز سطح کلسترول خون را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داده است (۲۳). نتایج مطالعات نشان می‌دهند سیر به‌طور مستقیم اثرات کاهندگی چربی و کلسترول دارد. این گیاه با افزایش دفع اسید و استروئیدهای طبیعی، دفع کلسترول را افزایش می‌دهد (۸). همچنین سیر میزان فعالیت آنزیم‌های سنتز کننده لیپیدها و کلسترول همانند گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز و ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز را کاهش می‌دهد (۲۴). از طرفی نتایج مطالعات نشان می‌دهند عصاره‌ی لیموترش توانایی خوبی در جهت کاهش میزان کلسترول خون دارد. در مطالعه‌ای، خان و همکاران نشان دادند مصرف لیموترش در خرگوش‌های تحت رژیم کلسترول بالا به‌طور چشمگیری میزان کلسترول خون را کاهش داده است (۲۵). در پژوهش دیگری الوکانی و همکاران گزارش کردند مصرف روزانه ۱۰ درصد لیموترش در آب آشامیدنی موش‌های صحرایی به‌مدت ۵ هفته توانست سطح کلسترول تام و LDL را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد (۲۶). بسیاری از محققین این اثرات را به اسیدهای چرب ضروری موجود در لیموترش نسبت می‌دهند (۱۴).

دیابت معمولا با افزایش رادیکال‌های آزاد و تخریب دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن همراه است (۲۷). قند خون بالا یکی از مهم‌ترین فاکتورهای القای استرس اکسیداتیو در بدن است که با پراکسیداسیون LDL منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (۲۸). افزایش رادیکال‌های آزاد باعث آسیب به پروتئین‌های سلولی، لیپیدهای غشا، اسید نوکلئیک و در نهایت مرگ سلولی می‌گردد (۳۰و۲۹). از طرفی آسیب اکسیداتیو اندوتلیوم شریان‌ها یک فاکتور مهم در شروع و پیشرفت آترواسکلروز می‌باشد (۳۱). در این پژوهش القای دیابت و دریافت رژیم غذایی پرکلسترول سبب بروز استرس اکسیداتیو در بافت قلب شده است، زیرا میزان MDA بافت قلب طی دیابت و کلسترول خون بالا به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. در مقابل دریافت عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر در مطالعه حاضر سبب کاهش چشمگیر میزان MDA در بافت قلب گردید. بر پایه‌ی پژوهش‌ها، لیموترش به علت دارا بودن پلی‌فنولیک ها مانند فلاونوئید، اسیدهای چرب حاوی فنولیک و توکوفرول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است (۱۴). همچنین گیاه سیر به‌علت برخورداری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوان همچون آلیسین باعث کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها می‌گردد (۹). احتمالا استفاده از عصاره‌ی ترکیبی این دو گیاه با مکانیسم‌های مذکور از شدت استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط هیپرگلیسمی و غذای پرکلسترول در بافت قلب جلوگیری کرده است. براساس یافته های این مطالعه، در بررسی‌های آسیب شناختی دیواره شریان آئورت، فقط در گروه دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول (گروه دیابتی و پرکلسترول) شواهدی دال بر تشکیل احتمالی پلاک آترواسکلروزی همچون برآمدگی لایه انتیما و تجمع چربی زیر غشای اندوتلیال مشاهده گردید. به نظر می‌رسد افزایش غلظت گلوکز و کلسترول خون به همراه القای استرس اکسیداتیو سبب ایجاد ضایعات بافتی در دیواره‌ی شریان آئورت شده است. با توجه به اینکه این تغییرات در گروه درمان شده مشاهده نگردید و همچنین بر اساس مقایسه نتایج تحقیقات دیگران، احتمالا عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر با کاهش غلظت گلوکز و کلسترول خون و همچنین استرس اکسیداتیو توانسته سبب کاهش میزان پیدایش آسیب‌های عروقی و آترواسکلروز گردد (۱۷و۱۴). براساس مطالعات انجام شده آلیسین موجود در سیر با مهار تجمع داخل سلولی کلسترول، سبب کاهش اکسیداسیون LDL و مهار برداشت oxLDL می‌گردد (۳۲). همچنین پکتین و بیوفلاونوئید موجود در لیموترش به‌ترتیب با کاهش کلسترول خون و بهبود عملکرد اندوتلیوم می‌توانند در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی- عروقی و آترواسکلروز موثر واقع شوند (۳۵-۳۳).

نتیجه گیری

به‌طور خلاصه یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد عصاره‌ی ترکیبی لیموترش و سیر با اصلاح هیپرگلیسمی، کاهش کلسترول خون و به دنبال آن کاهش تولید رادیکال‌های آزاد از آسیب به عروق و تشکیل پلاک‌های آترواسکلروزی در محل‌های مستعد همچون عروق کرونر و شریان آئورت جلوگیری می‌کند. به نظر می‌رسد ترکیبات موجود در این دو گیاه در کاهش این اختلالات موثر بوده و شاید در آینده بتوان با استفاده از این ترکیب از پیشرفت آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی جلوگیری به عمل آورد.

تقدیر و تشکر

این مقاله قسمتی از نتایج پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین وسیله از گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک دانشکده‌ی پزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله جهت فراهم کردن مقدمات انجام پروژه‌ی حاضر تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از خانم‌ها کفایت بغلانی و فاطمه سالم جهت مساعدت در انجام تحقیق حاضر تقدیر می‌گردد.

References

1- Snowling NJ, Hopkins WG. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2006; 29: 2518-27.

2- Madhikarmi NL, Murthy KRS, Rajagopal G, Singh P. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with type 2 diabetes in relation to obesity in Pokhara-Nepal. *J Diabetol*. 2013; 1: 1-8.

3- Keaney JF. Atherosclerosis: from lesion

www.SID.ir

Archive of SID

formation to plaque activation and endothelial dysfunction. *Mol Aspects Med.* 2000; 21: 99-166.

4- Kramer CK, Leitao CB, Pinto LC, et al. Risk factors for micro and macrovascular disease in black and white patients with type 2 diabetes mellitus. *Rev Assoc Med Bras.* 2009; 55: 308-14.

5- Yan M, Mehta JL, Zhang W, Hu C. LOX-1, oxidative stress and inflammation: a novel mechanism for diabetic cardiovascular complications. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2011; 25: 451-9.

6- Chen M, Masaki T, Sawamura T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther*. 2002; 95: 89-100.

7- Allen DA, Yaqoob MM, Harwood SM. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. *J Nutr Biochem.* 2005; 16: 705-13.

8- Ebrahimi T, Behdad B, Abbasi MA, et al. High doses of garlic extract significantly attenuated the ratio of serum LDL to HDL level in rat-fed with hypercholesterolemia diet. *Diagn Pathol.* 2015; 10: 74-9.

9- Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic *(Allium sativum L.)* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine.* 2006; 13: 624-9.

10- Ide N, Lau BH. S-allylcysteine attenuates oxidative stress in endothelial cells. *Drug Dev Ind Pharm.* 1999; 25: 619-24.

11- Vinson JA, Proch J, Bose P. Determination of quantity and quality of polyphenol antioxidants in foods and beverages. *Methods Enzymol.* 2001; 335: 103-14.

12- Schröder H. Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem.* 2007; 18: 149-60.

13- Manners GD. Citrus limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects. *J Agric Food Chem.* 2007; 55: 8285-94.

14- Chung MJ, Cho S-Y, Bhuiyan MJH, Kim KH, Lee S-J. Anti-diabetic effects of lemon balm *(Melissa officinalis)* essential oil on glucose-and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. *Br J Nutr.* 2010; 104: 180-8.

15- Mohammadi MT, Pirmoradi L, Mesbah F, Safaee A, Dehghani GA. Trophic actions of oral vanadium and improved glycemia on the pancreatic beta-cell ultrastructure of streptozotocin-induced diabetic rats. *JOP*. 2014; 15: 591-6.

16- Riahi S, Mohammadi MT, Sobhani V, Soleimany M. Chronic effects of aerobic exercise on gene expression of LOX-1 receptor in the heart of rats fed with high fat diet. *Iran J Basic Med Sci.* 2015; 18: 805-12.

17- Karimi A, Khayam Nasab N. Effect of garlic extract and *Citrus aurantifolia (lime)* juice and on blood glucose level and activities of aminotransferase enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *World J Pharm Sci.* 2014; 2: 821-7.

www.SID.ir

Archive of SID

18- Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta.* 1978; 90: 37-43.

19- Mohammadi MT, Dehghani GA. Acute hypertension induces brain injury and blood-brain barrier disruption through reduction of claudins mRNA expression in rat. *Pathol Res Pract.* 2014; 210: 985-90.

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: 248-54.

21- Masjedi F, Gol A, Dabiri S. Preventive effect of garlic *(Allium sativum L.)* on serum biochemical factors and histopathology of pancreas and liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Pharm Res.* 2013; 12: 325.

22- Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Effect of garlic on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipid levels in hyperlipidemic rats. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 1110-4.

23- Adler AJ, Holub BJ. Effect of garlic and fish-oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations in hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65: 445-50.

24- Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Effect of garlic on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipid levels in hyperlipidemic rats. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 1110-4.

25- Khan Y, Khan RA, Afroz S, Siddiq A. Evaluation of hypolipidemic effect of citrus lemon. *J basic Appl Sci.* 2010; 6: 39-43.

26- Olukanni O, Akande O, Alagbe Y, Adeyemi O, Olukanni A, Daramola G. Lemon juice elevated level of reduced glutathione and improved lipid profile in wistar rats. *Am Eurasian J Agric & Environ Sci.* 2013; 13: 1246-51.

27- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003; 17: 24-38.

28- Yan M, Mehta JL, Zhang W, Hu C. LOX-1, oxidative stress and inflammation: a novel mechanism for diabetic cardiovascular complications. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2011; 25: 451-9.

29- Maritim A, Sanders R, Watkins J. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003; 17: 24-38.

30- Aydın A, Orhan H, Sayal A, Özata M, Şahin G, Işımer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem.* 200; 34: 65-70.

31- Nagase M, Ando K, Nagase T, Kaname S, Sawamura T, Fujita T. Redox-sensitive regulation of lox-1 gene expression in vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 281: 720-5.

32- Ide N, Lau BH. Garlic compounds protect vascular endothelial cells from oxidized low

www.SID.ir

Archive of SID

density lipoprotein-induced injury. *J Pharm Pharmacol.* 1997; 49: 908-11.

33- Landberg R, Sun Q, Rimm EB, et al. Selected dietary flavonoids are associated with markers of inflammation and endothelial dysfunction in U.S. women. *J Nutr*. 2011; 141: 618-25.

34- Buachan P, Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK. Selected activities of *Citrus Maxima Merr*. fruits on human endothelial cells: enhancing cell migration and delaying cellular aging. *Nutrients.* 2014; 6: 1618-34.

35- Tundis R, Loizzo MR, Menichini F. An overview on chemical aspects and potential health benefits of limonoids and their derivatives. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014; 54: 225-50.

www.SID.ir

Archive of SID

Assessment of Anti-Diabetic, Anti-Atherosclerotic and Antioxidant Effects of Combined Lemon and Garlic Extract in Diabetic Rats Fed with High Cholesterol Diet

Sahebnazar R[1], Rezazadeh E[2], Sadrayi H[1], Mohammadi MT[3]

[1]Dept. of Anatomy, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2]Dept.of Microbiology, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[3]Dept. of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Mohammadi MT, Dept. of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

E-mail: Mohammadimohammadt@bmsu.ac.ir

Received: 28 Jul 2015 **Accepted:** 18 Oct 2015

Background and Objective: Previous studies have distinctly illustrated the decreasing effects of lemon and garlic extracts on blood glucose and cholesterol. In the present study, the anti-diabetic, anti-atherosclerotic and antioxidant effects of combined lemon and garlic extract were evaluated in diabetic rats fed with high cholesterol diet.

Materials and Methods: The experiment was performed in five groups of rats (N=40); control, diabetic, diabetic plus high-cholesterol, diabetic plus extract and diabetic plus high-cholesterol plus extract. Diabetes was induced by an intravenous injection of streptozotocin (37mg/kg). High-cholesterol diet was prepared by adding 4% cholesterol and 1% colic acid to standard food. Treated groups received lemon and garlic extract orally (1ml, twice a day) for 60 days. At the end, the heart malondialdehyde (MDA) and histopathological changes of aorta were assessed.

Results: Blood glucose significantly increased in diabetic groups (>200mg/dl) and blood cholesterol significantly increased in diabetic plus high-cholesterol rats (187±15mg/dl). Combined extract significantly decreased the blood glucose of diabetic plus extract group (147±7mg/dl) compared to diabetic group ($P<0.05$). Also, this extract meaningfully decreased the blood cholesterol of diabetic plus high-cholesterol plus extract group (102±10mg/dl) compared to diabetic plus high-cholesterol group ($P<0.05$). The MDA content of the heart were high in diabetic and diabetic plus high-cholesterol groups plus combined extract decreased the level of MDA in both treated groups. Finally, damage to aorta and atherosclerosis was only observed in diabetic& high- cholesterol group.

Conclusion: Based on our findings, combined extract of lemon and garlic was able to prevent atherosclerosis formation and damage of aorta probably by reduction of tissue oxidative stress, blood glucose and cholesterol in diabetic rats fed with high cholesterol diet.

Keywords: High-cholesterol, Atherosclerosis, Lemon, Garlic, Diabetes mellitus

www.SID.ir