Archive of SID

مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۵, شمـاره‌ی ۱۱۱, مهر و آبان ۱۳۹۶, صفحات ۸۲ تا ۹۳

بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدان و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با ژل رویال

الهام قنبری[۱]، دکتر عاطفه انصاریان[۲]، فروغ یوسف‌زایی[۳]، دکتر مظفر خزاعی[۴]

نویسنده‌ی مسئول: مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه mkhazaei1345@yahoo.com

دریافت: ۹۵/۵/۲۴ پذیرش: ۹۵/۸/۹

چکیده

زمینه و هدف: *دیابت شیرین یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی در سراسر دنیا می‌باشد. امروزه ترکیبات طبیعی متعـددی در بهبـودی بیمـاری دیابت شیرین استفاده می‌شود. ژل رویال دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی است. این مطالعه جهت بررسی اثر ژل رویال بر تغییرات بافـت کبد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی در موش صحرایی دیابتی انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۲ سر موش نر بالغ نژاد ویستار (۱۹۰ تا ۲۰۰ گرم) به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی: کنتـرل، ژل رویـال، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با ژل رویال تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزتوسین القا شد. ژل رویال بـا دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۴۲ روز گاواژ شد. در پایان دوره‌ی آزمایش، سطوح سرمی مـالون‌دی‌آلدئیـد، ظرفیـت تـام آنتـی‌اکـسیدانی (Total Capacity Antioxidant/TCA)، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد و کبد حیوانات نیز جدا و از نظر هیستوپاتولوژی بررسی شد.*

یافته‌ها: *مصرف ژل رویال باعث کاهش معنی‌دار در سطوح سرمی مالوندی‌آلدئید (P=۰/۰۰۷) و افـزایش معنـی‌دار در ظرفیـت تـام آنتـی‌اکـسیدان (P=۰/۰۰۱) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (P=۰/۰۱۹) شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال نیـز نسبت به گروه دیابتی افزایش (P=۰/۰۰۲) یافت. تجویز ژل رویال سبب بهبود تغییرات هیستوپاتولوژی کبد شد.*

نتیجه‌گیری: *ژل رویال موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده و از تغییرات هیستوپاتولوژی ناشی از دیابت در کبد جلوگیری می‌کند.*

واژگان کلیدی: ***دیابت شیرین، ژل رویال، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، کبد.***

مقدمه

دیابت شیرین، یکی از بیمارهای سیستم غـدد درون ریـز است که شیوع آن در آینده افزایش خواهد یافت (۱). در حال حاضر، ۳ درصد از جمعیت جهان دیابتی هستند و تخمین زده می‌شود که جمعیت مبتلایـان در سـال ۲۰۲۵ مـیلادی، بیـشتر از ۳۰۰ میلیون نفر در جهـان باشـد (۲). هیپرگلیـسمی مـزمن می‌تواند ضایعات فراوان و جبران ناپـذیری در چـشم، کلیـه،

۱- کارشناسی ارشد زیست شناسی، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه
۲- متخصص قلب، استادیار گروه قلب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه
۳- کارشناسی ارشد زیست شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل
۴- دکترای بافت شناسی و جنین شناسی، استاد مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه

www.SID.ir

Archive of SID

قلب و عروق، اعصاب و سایر اعضای بدن به وجود آورد (۳). یکی از ارگان‌های حساس بدن، کبد می‌باشد که تقریبا طیف وسیعی از اختلالات آن در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دیده می‌شود که شامل سطوح آنزیمی غیرطبیعی، بیماری کبد چرب غیر الکلی، سیروز، سرطان و نارسایی کبدی حاد است (۴). اثرات بافتی ناشی از دیابت را می‌توان به استرس اکسیداتیو ناشی از آن نسبت داد (۵). استرس اکسیداتیو، عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن است که به‌شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط می‌باشد به‌طوری که در هر دو نوع دیابت ۱ و ۲ حتی در غیاب سایر عوارض دیابتی، استرس اکسیداتیو در خون افزایش یافته و درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به کاهش عوارض آن می‌گردد (۶). سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی، نقش دفاعی مهمی در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد به عهده دارد. آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از آنزیم‌های کلیدی این سیستم هستند (۷و۸). عملکرد هماهنگ این آنزیم‌ها محافظت از سلول را تضمین و تعادل در فعالیت آن‌ها موجب محافظت مطلوب می‌گردد. میزان تولید رادیکال‌های آزاد و کارایی سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی سلول، شرایط حاکم بر سلول را تعیین می‌کند (۷).

انسولین و داروهای صناعی کاهنده‌ی قند خون، اساس درمان دیابت را تشکیل می‌دهند اما دارای عوارض جانبی بوده و برخی مشکلات را به وجود می‌آورند (۹). با توجه به افزایش دانش بشری در مورد این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات موثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن وجود دارد. گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آن‌ها شواهد معتبری یافت نمی‌شود (۱۰). ژل رویال، ماده‌ای سفید مایل به زرد است که توسط زنبورهای کارگر جوان در سنین ۵ تا ۱۵ روزه ترشح شده و در تغذیه‌ی زنبور ملکه درتمام طول عمر و در لاروهای جوان در مراحل اولیه رشد، مورد استفاده قرار می‌گیرد. بدون ژل رویال هیچ لاروی قادر به رشد نیست. این ماده حاوی ۵۰ تا ۷۰ درصد آب، ۹ تا ۱۸ درصد پروتئین، ۷ تا ۱۸ درصد کربوهیدرات، ۳ تا ۸ درصد لیپید، عناصر معدنی ۱/۵ درصد، انواع ویتامین‌های C، D وE، و ویتامین‌های گروه B مانند تیامین (B1)، ریبوفلاوین (B2)، پیروکسین (B6)، نیکوتینیک اسید، فولیک اسید، اسید پانتوتنیک و اینوزیتول است (۱۱). ژل رویال، دارای اثرات بیولوژیک متعدد از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، حفاظت کبدی، ضد دیابتی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی و تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی می‌باشد (۱۲). تحقیقات اخیر نشان داده است که ژل رویال از طریق مهار رادیکال‌های آزاد، دارای فعالیت قوی آنتی‌اکسیدان است، همچنین فرایند پراکسیداسیون لیپیدی را در محیط برون تن و درون تن مهار می‌کند (۱۵-۱۳). ژل رویال دارای گلیکو پروتئینی ۵۷ کیلودالتونی است که رشد سلول‌های کبدی و بازسازی بافت کبد را تحریک می‌کند (۱۶). از طرفی سنتز DNA در هپاتوسیت‌ها را القا کرده و مانع از آپوپتوز در کبد می‌شود (۱۷) و قادر است از طریق پپتیدهای شبه انسولینی سطح قندخون طبیعی را به وسیله‌ی اکسیداسیون گلوکز، حفظ کند (۱۸). درمان با ژل رویال در بیماران دیابتی باعث جلوگیری از افزایش قند خون و کاهش سطوح سرمی انسولین می‌شود. بنابراین مصرف آن در بیماران مبتلا به دیابت می‌تواند در کاهش شدت بیماری موثر باشد (۱۹). اما اثر ژل رویال بر بافت کبد و پارامترهای بیوشیمیایی مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی در بیماری دیابت مطالعه نشده است، لذا هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر ژل رویال بر ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، سطوح سرمی پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسیددیسموتاز و ساختار بافت کبد در موش صحرایی دیابتی می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از ۳۲ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۱۹۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی کافی به غذا و دمای ۱± ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌های صحرایی تحت تزریق داخل صفاقی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین (حل شده در بافر فسفات ۰/۱ مولار)، قرار گرفتند (۲۰). قند خون ناشتا یک هفته بعد اندازه‌گیری شد و حیوانات با قند خون بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، دیابتی در نظر گرفته شدند (۲۱). پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و همچنین کمیته‌ی اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با شماره مجوز ۳۶۵- ۱۳۹۵ انجام گردید. ژل رویال در ظرف شیشه‌ای تیره رنگ و در یخچال (^{o}C-۴) سانتی‌گراد نگهداری شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه شاهد سالم و کنترل دیابتی که روزانه ۰/۵ سی‌سی آب مقطر به‌صورت گاواژ دریافت نمودند، گروه ژل رویال و گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال که به مدت ۴۲ روز، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژل رویال به صورت گاواژ دریافت نمودند. ۱۲ ساعت بعد از آخرین گاواژ، موش‌ها بیهوش شده و خونگیری از قلب حیوان انجام گرفت. نمونه‌های خونی به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ و سرم آن‌ها جدا شد. سرم‌ها برای سنجش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، سطوح مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتازاستفاده شدند.

قسمتی از کبد موش‌ها در فرمالین بافرشده (۱۰ درصد) تثبیت و پس از پاساژ و تهیه‌ی مقاطع بافتی ۵ میکرومتری، به روش معمول هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. بررسی هیستوپاتولوژی با استفاده از میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی ۴۰۰X) مجهز به دوربین عکاسی و نرم‌افزار موتیک (Motic images 2000) انجام شد (۲۲). از هر نمونه ۱۰ لام تهیه گردید و قسمت‌های مختلف از هر لام در ۲۰ فیلد به‌صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات نمونه‌ها توسط دو محقق و به‌طور جداگانه مورد بررسی و تایید قرار گرفت.

سنجش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی Total Capacity Antioxidant (TCA): ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم به روش TCA مورد سنجش قرار گرفت. در این روش آنتی‌اکسیدان‌های سرم، یون‌های Fe^{+3} را به Fe^{+2} احیا کرده که تغییر رنگ ایجاد شده در نتیجه تشکیل کمپلکس Fe^{+2}با تری پریدیل‌تریازین در طول موج ۵۹۳ نانومتر متناسب با ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم می‌باشد. معرف TCA حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول اسید کلریدریک (۱۰ میلی‌مولار) به اضافه ۲/۵ میلی‌لیتر از آهن کلرید ($FeCl_3$) و ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر استات (۰/۳ مولار با PH= ۳/۶) به طور تازه آماده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه می‌شود. سپس مقادیر TCA با استفاده از اسپکتروفتومتر و مقایسه تغییرات جذب نوری در ۵۹۳ نانومتر بین نمونه تحت آزمایش و استاندارد که حاوی یون‌های Fe^{2+} در مقادیر مشخص می‌باشد، محاسبه گردید. استاندارد مورد استفاده شامل FeSO4 و در غلظت‌های مختلف (۱۲۵-۲۵۰-۵۰۰-۱۰۰۰ میلی‌مول بر لیتر) بود (۱۴).

اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید: مالون دی آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب است و با تیوباربیتوریک اسید (ThioBarbituric Acid/ TBA) وارد واکنش می‌شود و تولید کمپلکس رنگی می‌نماید. اساس این روش، اندازه‌گیری اسپکتروفتومتریک رنگ ایجاد شده بر اثر واکنش TBAبا مالون دی آلدئید است. بدین‌منظور ۳۰۰ میکرولیتر از تیوباربیتوریک اسید ۰/۶۷ درصد به نمونه سرم اضافه و در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۲۵ دقیقه انکوبه شد. ۵ دقیقه پس از خنک شدن محلول، رنگ صورتی ناشی از

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش TBA با مالون دی‌آلدئید ظاهر و به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر ارزیابی گردید. غلظت مالون دی‌آلدئید به کمک ضریب جذبی کمپلکس TBA- مالون دی‌آلدئید محاسبه و به‌صورت میکرومول بر لیتر بیان گردید (۱۴).

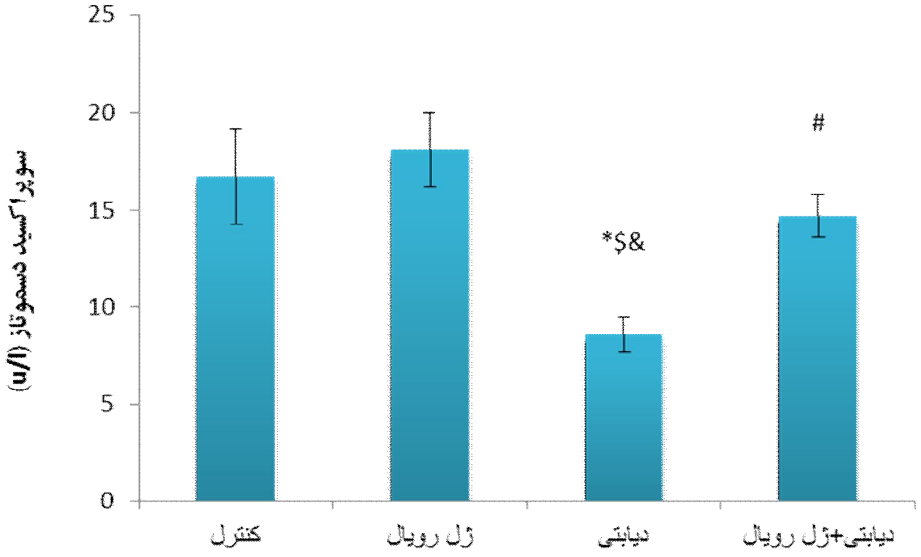
سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (Super Oxide Dismutase (SOD: در این روش از گزانتین اکسید از جهت تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با 2-Iodophenyl-3-(4-Nitrophenol)-5-phenylterazolium chloride واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌کنند که در طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازگیری می‌شود (۲۳).

اندازه‌گیری گلوتاتیون ردوکتاز: فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون ردوکتاز توسط کیت حیوانی RANSOL ساخت شرکت Rondaxlab انگلیس مورد سنجش قرار گرفتند (۲۴).

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند. برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و مقایسه‌ی میانگین گروه‌های آزمایشی از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیری ANOVA و تست LSD استفاده شد و P≤۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرمی در گروه دیابتی نسبت به گروه‌های کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد (P=۰/۰۱). در حالی که در گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال، فعالیت آن نسبت به گروه دیابتی، افزایش معنی‌داری نشان داد (P=۰/۰۱۹)، (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه اثر ژل رویال بر فعالیت آنزیم‌ها سوپر اکسیددیسموتاز در گروه‌های کنترل و تجربی، اعداد بر اساس Mean ± SE. می‌باشد. *: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل؛ $: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه ژل رویال؛ #: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی؛ &: تفاوت معنی‌دار در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال.

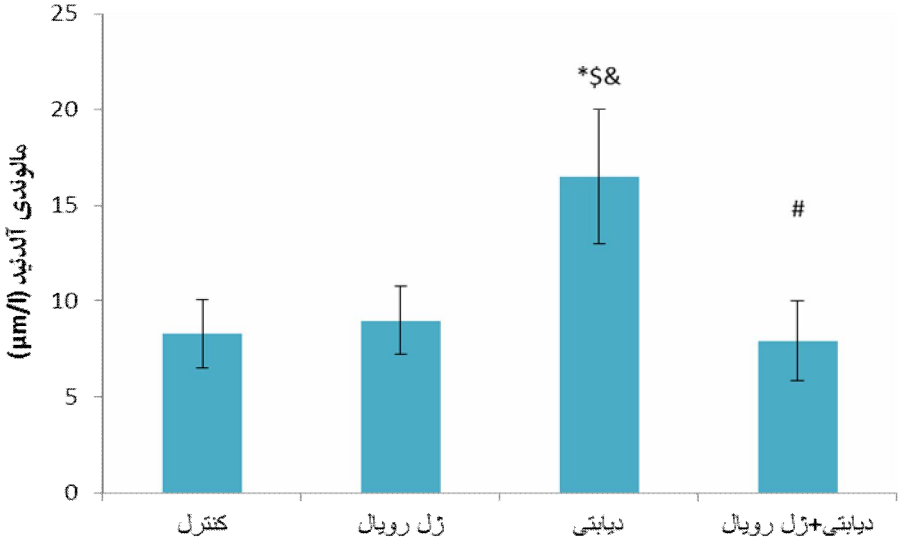
www.SID.ir

Archive of SID

سطوح سرمی مالون دی‌آلدئید در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های کنترل، ژل رویال و دیابتی تحت درمان با ژل رویال، به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P=۰/۰۰۳). ژل رویال به‌طور معنی‌داری سطح سرمی مالون دی‌آلدئید را نسبت به‌گروه دیابتی کاهش داد (P=۰/۰۰۲). بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲).

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TCA) در سرم موش‌های دیابتی، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (P=۰/۰۰۷). در حالی که درمان با ژل رویال باعث افزایش معنی‌داری در سطوح سرمی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی شد (P=۰/۰۰۰). مقایسه‌ی گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال و گروه کنترل نشان داد که بین این گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۱۴)؛ (نمودار ۳).

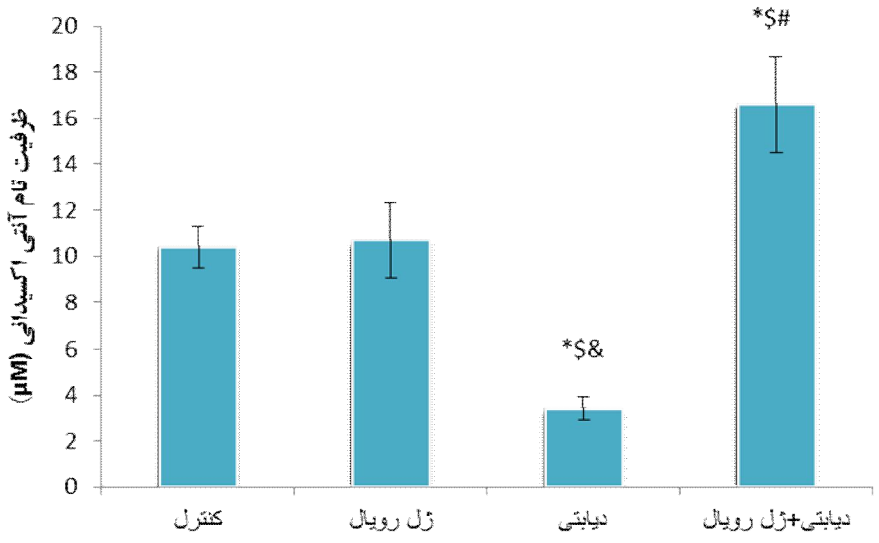
فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در سرم موش‌های صحرایی گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و ژل رویال به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۲). بین دو گروه دیابتی و دیابتی درمان شده با ژل رویال و اختلاف معنی‌داری دیده نشد (P=۰/۲)؛ (نمودار ۴).



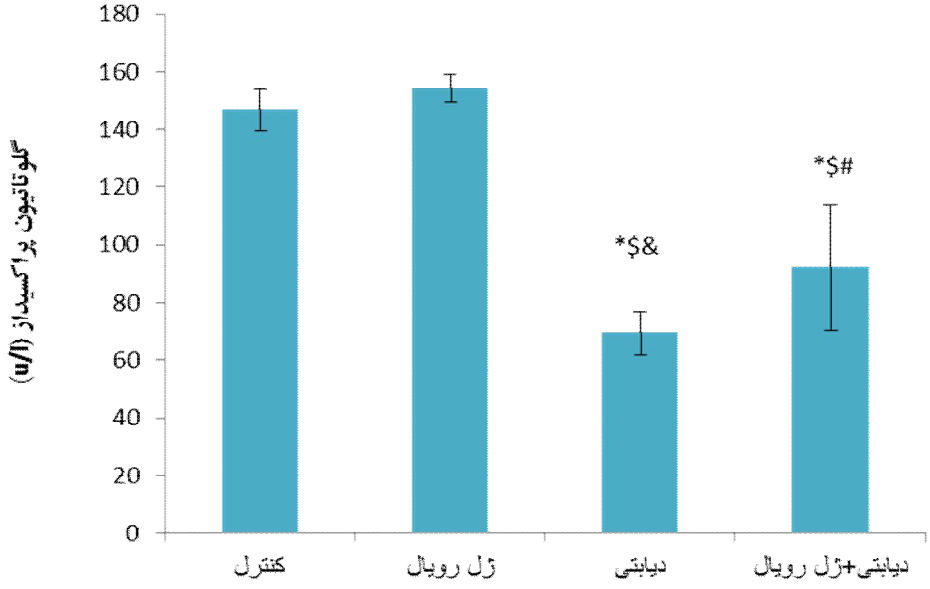
نمودار ۲: مقایسه اثر ژل رویال بر سطوح سرمی مالوندی آلدئیدسرم در گروه‌های کنترل و تجربی. اعداد بر اساس Mean ± SE می‌باشد. *: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل؛ $: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه ژل رویال؛ #: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی؛ &: تفاوت معنی‌دار در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال.

www.SID.ir

Archive of SID



*نمودار ۳: مقایسه اثر ژل رویال بر ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در گروه‌های کنترل و تجربی. اعداد بر اساس Mean ± SE می‌باشد. *: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل؛ $: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه ژل رویال؛ #: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی؛ &: تفاوت معنی‌دار در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال.*

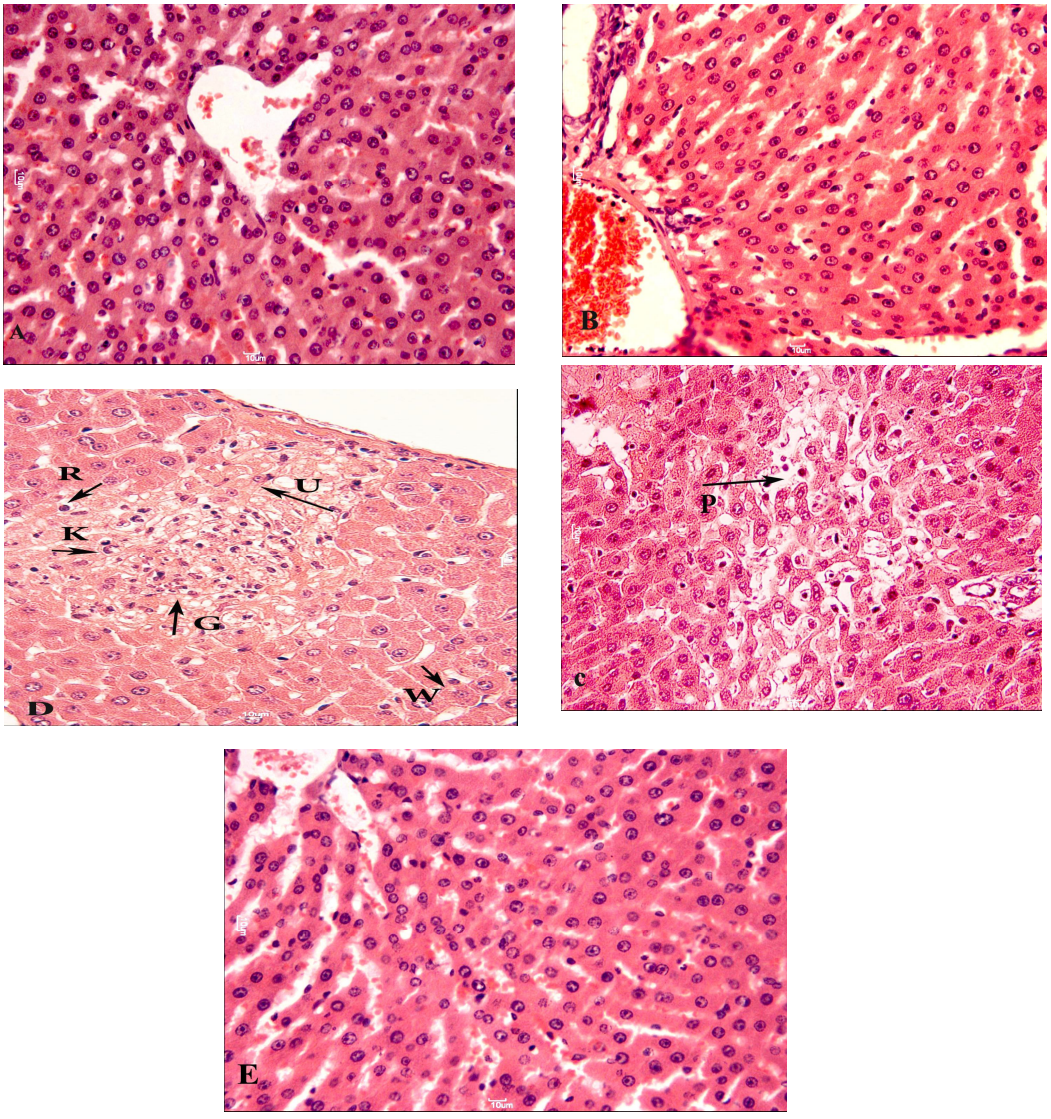


*نمودار ۴: مقایسه اثر ژل رویال بر فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های کنترل و تجربی. اعداد بر اساس Mean ± SE می‌باشد. *: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل؛ $: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه ژل رویال؛ #: تفاوت در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی؛ &: تفاوت معنی‌دار در سطح P≤ ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال.*

www.SID.ir

Archive of SID

در بررسی بافت شناسی کبد، در گروه ژل رویال و کنترل، بافت کبد کاملا ساختار طبیعی داشته و هیچ‌گونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نشد (شکل۱ -A وB). در گروه دیابتی، جدا شدن سلول‌های هپاتوسیت، نکروز پراکنده و واکوئله شدن و افزایش اندازه سلول‌های کبدی و در برخی نواحی، تورم، مچاله شدن و قطعه قطعه شدن هسته در مقایسه با گروه کنترل دیده شد (شکل۱- D و C). اما در گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال این تغییرات مشاهده نشد و بافت کبد شباهت زیادی به گروه کنترل داشت (شکل۱- E).



شکل ۱: مقاطع بافتی گروه‌های کنترل (A) و ژل رویال (B) دارای هپاتوسیت‌های با ساختار بافتی نرمال هستند. شکل‌های D & C مقطع بافتی گروه دیابتی واکوئله شدن (R)، نکروز (G)، تغییر شکل (U). افزایش اندازه سلول‌های در برخی نواحی با حالت متورم در سلول‌های هپاتوسیت‌ها (W) و جداشدن (P) و مچاله شدن هسته هپاتوسیت‌ها (K) مشاهده می‌شود. مقطع بافتی از گروه دیابتی تحت درمان با ژل رویال (E) است که دارای هپاتوسیت‌های با ساختار طبیعی هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در مطالعه‌ی حاضر ژل رویال سبب افزایش معنی‌دار ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز سرم شد. همچنین کاهش معنی‌داری در سطوح سرمی مالون دی‌آلدئید در مقایسه با موش‌های صحرایی دیابتی دیده شد. القای دیابت علاوه بر افزایش گلوکز خون، از طریق کاهش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود. همچنین اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌های دیگر با پیشرفت دیابت، افزایش می‌یابد (۲۵). در مطالعه‌ی حاضر افزایش سطوح مالون دی‌آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز وگلوتاتیون ردوکتاز بعد از القای دیابت، بیانگر وقوع استرس اکسیداتیو است. دیابت شیرین از جمله بیماری‌های ایجاد کننده استرس اکسیداتیو است که آثار مخربی بر ارگان‌های مختلف از جمله کبد می‌گذارد (۲۶).

مالون دی‌آلدئید فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است که برای شناسایی و تعیین رادیکال‌های آزاد اکسیژن در آسیب استفاده می‌شود. به‌طور مشابه با تحقیق حاضر، ژل رویال سطوح مالون دی‌آلدئید در سرم موش‌های صحرایی دریافت کننده‌ی سیس پلاتین را کاهش داده و ساختار بافت کبد را از آسیب ناشی از سیس پلاتین محافظت کرد (۲۷). در مطالعه‌ی حاضر نیز ژل رویال توانست از تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از دیابت در کبد موش‌های صحرایی جلوگیری کند. بنابراین نتایج ما تحقیقات قبلی در مورد اثر حفاظتی ژل رویال بر کبد را تایید می‌نماید. همچنین چیس و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که دیابت باعث افزایش چشمگیری در سطح سرمی مالون دی‌آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (۲۶) که هم راستا با نتایج مطالعات ما بود. در مطالعه‌ی نجاتی و همکاران (۲۰۱۶) نیز اثر سمی اکسی‌متانول بر کبد بررسی و کاهش سطح مالون دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز در گروهی که داروی اکسی‌متانول را همراه با ژل رویال دریافت کردند، شد که علت آن فعالیت حفاظتی ژل رویال در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف اکسی متانول بیان شد (۲۸).

درمان با ژل رویال (۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۲۸ روز در موش‌های صحرایی دریافت کننده‌ی تاکسول (Taxol)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داد که تایید فعالیت حفاظت کبدی ژل رویال در برابر سمیت ناشی از مصرف تاکسول می‌باشد (۲۹). طی بررسی‌های انجام شده توسط النکیتی و همکاران تجویز ژل رویال به موش‌های صحرایی دریافت کننده‌ی داروی فمونیسین (یک مایکوتوکسین تولید شده توسط *Fusarium verticillioides*) فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز را افزایش و سبب حفاظت کبدی علیه مسمومیت ناشی از فمونیسین شد (۱۳). در مطالعه‌ی حاضر نیز ژل رویال باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز گردید و بافت کبد را از آسیب ناشی از عوارض دیابت محافظت کرد. بنابراین مطالعه‌ی حاضر نتایج مطالعات گذشته را تایید می‌کند.

اثرات سودمند ژل رویال به خصوصیات آنتی اکسیدانی سه دی‌پپتید (Lys–Tyr، Arg–Tyr و Tyr–Tyr) نسبت داده می‌شود. توانایی آنتی اکسیدانی این پپتیدها مربوط به‌خواص گروه هیدروکسیل پلی‌فنولی آن‌ها و مهار رادیکال‌های آزاد از طریق مکانیسم هیدروژن دهی گروه‌های هیدروکسیل این اسیدآمینه‌ها می‌باشد (۳۰). با مقایسه‌ی نتایج مطالعه حاضر با مطالعه‌ی ذکر شده می‌توان گفت پپتیدهای آنتی‌اکسیدان در ژل رویال از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند، لذا ژل رویال می‌تواند از این طریق در کاهش عوارض مختلف دیابت موثر باشد.

افزایش گونه‌های آزاد اکسیژن ناشی از دیابت با حمله به‌غشای سلول سبب پراکسیداسیون لیپیدی آن شده و منجر به هضم غشا و القای نکروز در سلول‌های پارانشیم کبد می‌شود

www.SID.ir

Archive of SID

(۳۱). بررسی اثر ژل رویال بر سمیت کبدی ناشی از مصرف سیس پلاتین نشان داد که در گروه تحت درمان با ژل رویال، میزان آپوپتوز سلولی به‌طور چشمگیری کاهش یافته است (۳۲). ژل رویال قبل و بعد از دریافت سیس پلاتین، سمیت کبدی ناشی از سیس پلاتین را کاهش می‌دهد که بیانگر این واقعیت است که ژل رویال دارای ترکیبات محرک سلول‌های کبدی و گلوتاتیون و سیستئین است که نقش مهمی در سیستم سم‌زدایی کبد دارند (۳۳). بر اساس تحقیقات اخیر، دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی با کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز همراه است که این یافته در بررسی حاضر نیز به‌دست آمد (۳۴). ژل رویال دارای فعالیت حفاظت کبدی در برابر اثرات مخرب اشعه‌ی گاما در موش‌های صحرایی بوده و باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز کبدی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد (۳۵). بر اساس نتایج ما می‌توان پیشنهاد کرد که تجویز ژل رویال از اثرات مخرب دیابت بر بافت کبد می‌کاهد.همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژل رویال، پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد شده به وسیله‌ی رادیکال‌های آزاد در شرایط استرس‌زا را خنثی می‌کند (۳۶). در مطالعه‌ی حاضر در گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، ژل رویال نه تنها در کاهش سطوح سرمی مالون دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موثر بوده بلکه توانسته در مهار تغییرات هیستوپاتولوژیک در موش‌های صحرایی نیز موثر واقع شود.

نتیجه‌گیری

ژل رویال می‌تواند کبد را در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط دیابت محافظت نماید و این اثر حفاظتی احتمالا در بهبود تغییرات ایجاد شده در ساختار بافت کبد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی موثر است.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به دلیل حمایت از انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*. 2006; 12: 130-47.

2- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030," *Diabetes Res Clin PR*. 2011; 94: 3: 311-21.

3- Mayfield J. Diagnosis and classification of diabetes mellitus: new criteria. *Am Fam Physic*. 1998; 55: 1355-62.

4- Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes Care*. 30; 2007: 734-43.

5- Moller DE. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature*. 2001; 414: 821-27.

6- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr*. 1996; 16: 33-50.

7- Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 1994; 17: 235-48.

8- Oruç EÖ, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity

www.SID.ir

Archive of SID

potential of diazinon in different tissues of Cyprinus carpio. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2007; 23: 48-55.

9- Dey L, Attele AS, Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Altern Med Rev*. 2002; 7: 45-58.

10- Jung M, Park M, Lee HC, Kang YH, Kang ES, Kim SK. Anti-diabetic agents from medicinal plants. *Curr Med Chem*. 2006; 13: 1203-18.

11- Ramadana MF, Al-Ghamdib A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *J Funct foods*. 2012; 4: 39-52.

12- Pavel IC, Mărghitaş LA, Bobiş O, et al. Biological activities of royal jelly-Review. *Anim Sci Biotechnologies*. 2011; 44: 108-18.

13- El-Nekeety AA, El-Kholy W, Abbas NF, Ebaid A, Amra HA, Abdel-Wahhab MA. Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. *Toxicon*. 2007; 50: 256-69.

14- Ghanbari E, Nejati V, Azadbakht M. Protective effect of royal jelly against renal damage in streptozotocin induced diabetic rats. *Iran J Toxicol*. 2015: 9; 1258-63.

15- Guo H, Ekusa A, Iwai K, Yonekura M, Takahata Y, Morimatsu F. Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidation in vitro and in vivo. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2008; 54: 191-95.

16- Zimmermann A. Liver regeneration: the emergence of new pathways. *Med Sci Monit*. 2002; 8: 53-63.

17- Şimşek N, Karadeniz A, Bayraktaroğlu AG. Effects of L-carnitine, royal jelly and pomegranate seed on peripheral blood cells in rats. *Kafk as Univ Vet Fak Derg*. 2009; 15: 63-69.

18- Mobasseri M, Ghiyasvand S, Ostadrahimi A, Ghojazadeh M, Noshad H, Pourmoradian S. Effect of fresh royal jelly ingestion on glycemic response in patients with type 2 diabetes. *Iran Red Crescent Med J*. 2015; 17: e20074.

19- Pourmoradian S, Mahdavi R, Mobasseri M, Faramarzi E, Mobasseri M. Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: A randomized clinical trial. *Chin J Integr Med*. 2014; 20: 347-62.

20- Ghanbari E, Nejati V, Najafi G, Khazaei M, Babaei M. Study on the effect of royal jelly on reproductive parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Fertil Steril*. 2015; 9: 113-20.

21- Pakseresht Z, Norouzi P, Hojati V, Kalalian Moghaddam H. Effect of palmatine hydrochloride on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2016; 24: 119-29.

22- Lotfi N, Khazaei M, Shariatzadeh SM, Mehranjani MS, Ghanbari A. The effect of *Cannabis sativa* hydroalcoholic extract on sperm parameters and testis histology in rats. *Int J Morphol*. 2013; 31: 82-86.

23- Nasirzadeh MR. Pretreatment with olive leaf extract on liver injury following ischemia-reperfusion in male rats. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2016; 24: 71-80.

www.SID.ir

Archive of SID

24- Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev*. 2008; 4: 46-54.

25- Mohammadi J, Delaviz H, Malekzadeh JM, Roozbehi A. The effect of hydro alcoholic extract of *Juglans regia* leaves in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci*. 2012; 25: 407-11.

26- Chiş IC, Clichici S, Mureşan A, Nagy AL, Oros A. Protective effects of Quercetin and chronic moderate exercise (training) against oxidative stress in the liver tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *Physiol Int.* 2016; 103: 49-64.

27- Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, et al. Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin. *Oxid Med Cell Longev*. 2011; 2011: 981793.

28- Nejati V, Zahmatkesh E, Babaei M. Protective effects of royal jelly on oxymetholone-induced liver injury in mice. *Iran Biomed J*. 2016; 20: 229-34.

29- Malekinejad H, Fani M, Shafiee-Roodbari SK, Delkhosh-Kasmaie F, Rezaei-Golmisheh A. Crosstalk between E2f1 and c-Myc mediates hepato-protective effect of royal jelly on taxol-induced damages. *Hum Exp Toxicol*. 2016.

30- Guo H, Kouzuma Y, Yonekura M. Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*. 2009; 113: 238-45.

31- Ghosh S, Bhattacharyya S, Rashid K, Sil PC. Curcumin protects rat liver from streptozotocin-induced diabetic pathophysiology by counteracting reactive oxygen species and inhibiting the activation of p53 and MAPKs mediated stress response pathways. *Toxicol Rep*. 2015; 365-76.

32- Yildirim S, Karadeìz A, Karako A, Yildirim A, Kalkan Y, Şimşek N. Effects of royal jelly on liver paraoxonase activity in rats treated with cisplatin. *Turk J Med Sci*. 2012; 42: 367-75.

33- Kanbur M, Eraslan G, Beyaz L, et al. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Exp Toxicol Path*. 2009; 61: 123-32.

34- Sheweita SA, Mashaly S, Newairy AA, Abdou HM, Eweda SM. Changes in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats: Role of *Alhagi maurorum* extracts. *Oxid Med Cell Longev*. 2016.

35- Cihan YB, Ozturk A, Gokalp SS. Protective role of royal jelly against radiation-induced oxidative stress in rats. *Int J Hematol Oncol*. 2013; 23: 79-87.

36- Ghanbari E, Nejati V, Khazaei M. Antioxidant and protective effects of royal jelly on histopathological changes in testis of diabetic rats. *Int J Reprod BioMed*. 2016; 14: 519-26.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of Antioxidant Status and Oxidative Stress in Diabetic Rats Treated with Royal Jelly

Ghanbari E[1], Ansarian A[2], Yosefzaei F[3], Khazaei M[4]

[1]Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

[2]Dept. of Cardiology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

[3]Dept. of Biology, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.

[4]Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Corresponding Author: Khazaei M, Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

E-mail: mkhazaei1345@yahoo.com.

Received: 14 Aug 2016 **Accepted:** 30 Oct 2016

Background and Objective: Diabetes mellitus is one of the most common metabolic disorders worldwide. Numerous natural compounds have been developed to treat diabetes mellitus. Royal jelly (RJ) has antioxidant and antidiabetic properties. This study was carried out to investigate the effects of RJ on antioxidant status, lipid peroxidation and liver tissue in diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 32 adult male Wistar rats (190-200 gr) were randomly divided into 4 groups including control, royal jelly, diabetic and diabetic treated with royal jelly. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (50 mg/kg) and Royal Jelly (100 mg/kg) was gavaged for 42 days. At the end of our study, serum levels of malondialdehyde, total antioxidant capacity (TCA) and superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities were determined spectrophotometrically, while the rat's livers were isolated for histological study.

Results: Consumption of RJ showed a significant decrease in malondialdehyde serum levels (P= 0.007) and a significant increase in total antioxidant capacity, superoxide dismutase (P=0.0019) and glutathione peroxidase activities in the RJ treated diabetic rats compared to diabetic rats (P= 0.003). Administration of royal jelly improved liver histological states.

Conclusion: RJ increased antioxidant power and prevented the occurrence of histopathological changes resulting from diabetes in rats.

Keywords: Diabetes mellitus, Royal jelly, Oxidative stress, Lipid peroxidation, Liver

www.SID.ir