Original Article

Effects of hydro-alcoholic leaf extract of Kardeh (*Biarum bovei* Blume) on the blood glucose and oxidative stress parameters in streptozotocin-induced diabetic rats

Enkari M[1*], Goodarzi S[2], Ansari K[3]

1 - Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Mehraein Institute of Higher Education, Bandar Anzali, Iran
2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University Izeh Branch, Izeh, Iran
3- Department of cellular and molecular, Faculty of Basic Sciences, Payam Noor University Talesh Branch, Talesh, Iran

Received: 2020/08/7 | Accepted: 2021/06/7

Abstract:

Background: Oxidative stress is the result of an imbalance between the production of free radicals and the body's antioxidant defense. Using antioxidants can have preventative effects on diabetes. The present study aimed to evaluate the effects of aqueous extract of Kardeh on blood glucose and oxidative stress parameters in streptozotocin-induced diabetic rats.
Materials and Methods: In this study, 40 male Wistar rats weighing 250 ± 200 g were selected and randomly divided into 5 groups (control, diabetic, treatment (diabetic + receiving *biarum bovei* hydroalcoholic extract of the plant at doses of 100, 200 and 400 mg / kg body per day by gavage for 14 days)). At the end of the study period, fasting blood glucose as well as malondialdehyde levels and the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase heart tissue were evaluated. The collected data were analyzed by SPSS software using one-way analysis of variance.
Results: The results showed that serum glucose concentration in the treatment group was significantly lower than the diabetic group (P<0.01). Also, in the treatment group, the level of MDA was significantly lower and the activity of TAC, SOD and GPX enzymes was higher than the diabetic group.
Conclusion: The results of the present study showed that Kardeh hydroalcoholic extract is able to prevent hypertension in diabetic rats and strengthen the antioxidant system of heart tissue.

Keywords: *Biarum bovei* Blume, Blood sugar, Oxidative stress, Rat

***Corresponding Author**
Email: mehda.enkari@yahoo.com
Tel: 0098 9113857210
Fax: 0098 1344610452

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2021; Vol. 25, No 2, Pages 926-934.

Please cite this article as: Enkari M, Goodarzi S, Ansari K. Effects of hydro-alcoholic leaf extract of Kardeh (Biarum Bovei Blume) on the blood glucose and oxidative stress parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Feyz*** 2021; 25(3): 926-34.

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه کارده (*Biarum bovei* Blume) بر گلوکز خون و پارامترهای استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

مهداد انکاری*[1]، سمیرا گودرزی[2]، کیانا انصاری[3]

خلاصه:

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است. استفاده از آنتی‌اکسیدان می‌تواند اثرات پیشگیری‌کننده‌ای در دیابت داشته باشد. هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی اثرات تجویز عصاره آبی گیاه کارده بر گلوکز خون و پارامترهای استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰±۲۵۰ گرم انتخاب گردیدند و به‌طور تصادفی به ۵ گروه (کنترل، دیابتی، تیمار (دیابتی+ دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه کارده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن در هر روز از طریق گاواژ به‌مدت ۱۴ روز)) تقسیم شدند. در پایان دوره مطالعه، میزان قند خون ناشتا و همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز بافت قلب ارزیابی گردید. داده‌های جمع‌آوری‌شده از طریق نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که غلظت سرمی گلوکز در گروه تیمار به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی کمتر بوده است ($P<۰/۰۱$). همچنین در گروه تیمار، به‌طور معنی‌داری سطح MDA کمتر و فعالیت آنزیم‌های TAC، SOD و GPX بیشتر از گروه دیابتی بوده است.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه کارده قادر است از افزایش قند خون در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده جلوگیری نموده و سیستم آنتی‌اکسیدانی بافت قلب را تقویت کند.

واژگان کلیدی: گیاه کارده، قند خون، استرس اکسیداتیو، موش‌صحرایی

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و پنجم، شماره ۳، مرداد - شهریور ۱۴۰۰، صفحات ۹۳۴-۹۲۶

مقدمه

دیابت شایع‌ترین اختلال اندوکرینی است که مشخصه آن هیپرگلیسمی است. امروزه محققان به‌طور ویژه‌ای بر نقش استرس اکسیداتیو در این بیماری متمرکز شده‌اند [۲،۱]. افزایش استرس اکسیداتیو و تغییر میزان آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمّی در پاتوژنز دیابت ایفا می‌کند [۳]. در بیماری دیابت به‌دنبال ایجاد اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، ساخت رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد [۴]. تولید بیش از حدّ رادیکال‌های آزاد باعث آسیب بیومولکول‌هایی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود. وضعیت آنتی‌اکسیدانی سلول، تعیین‌کننده حساسیت سلول به آسیب اکسیداتیو است که معمولاً در پاسخ به استرس اکسیداتیو تغییر می‌کند.

۱. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، مؤسسه آموزش عالی مهرآیین، بندرانزلی، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه، ایذه، ایران

۳. گروه سلولی-مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور واحد تالش، تالش، ایران

***نشانی نویسنده مسئول:** گیلان - بندر انزلی - موسسه آموزش عالی مهرآیین

تلفن: ۰۹۱۱۳۸۵۷۲۱۰

پست الکترونیک: mehda.enkari@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۷ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۰/۳/۱۷

دیابت باعث افزایش لیپید و لیپوپروتئین‌های خون از جمله تری‌گلیسرید VLDL، LDL و کاهش HDL می‌گردد [۶،۵]. بافت مغز غنی از فسفولیپیدهایی است که می‌تواند مورد حمله گونه‌های بسیار واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) برای شروع پراکسیداسیون لیپید قرار گیرد [۸،۷]. پراکسیداسیون لیپید منجر به تولید آلدئیدهای سمّی گردیده که یکی از سمّی‌ترین آن‌ها، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) است. مالون‌دی‌آلدئید ترکیبی بی‌رنگ و محصول نهایی حاصل از تجزیه پراکسید چربی است که در حال حاضر به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می‌شود. از این‌رو می‌توان با اندازه‌گیری میزان MDA به مقدار آسیب لیپیدهای سلولی در برابر اکسیداسیون پی برد [۹]. امروزه استفاده از داروهای گیاهی به‌دلیل تأثیر مثبت، عوارض جانبی کمتر و هزینه نسبتاً پایین، رو به گسترش است. بنابراین جستجو برای جایگزین‌های جدید ضدّدیابت از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در دنیا اهمیت فراوانی پیدا کرده است [۱۰]. جنس *Biarum* از تیره گل شیپوری یا شیپوری‌سانان (*Araceae*) می‌باشد. یک گونه از این جنس، گیاه کارده یا کولیر *Biarum bovei* است [۱۱]. وجود فلانوئیدها و آنتوسیانین‌ها در شیپوری‌سانان اوّلین‌بار توسط ویلیامز و همکاران در سال (۱۹۸۱) گزارش شده‌اند [۱۲]. همچنین وجود آلکالوئیدها و آمین‌ها، ساپونین‌ها، اسیدهای سینامیک و فلاونوئیدها در این تیره به اثبات رسیده است [۱۳]. فلاونوئیدها دسته وسیعی از ترکیبات پلی‌فنولیک هستند که به‌طور

وسیع در سلول‌های فتوسنتزکننده توزیع شده‌اند و دارای فعالیت‌های فارماکولوژیکی متعددی هستند [۱۴]. علاوه‌بر این عصاره کارده اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی در مهار رادیکال‌های آزاد نشان داده است [۱۵]. تحقیقات در رابطه با آثار درمانی کارده، بسیار اندک است. در مطالعه زنگنه و همکاران (۲۰۱۵) اثر عصاره آبی الکلی گیاه کارده بر آستانه درد در موش‌های صحرایی دیابتی بررسی گردید و تجویز دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از این عصاره باعث کاهش قند خون و دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش آستانه درد شد [۱۶]. عصاره گیاه کارده باعث بهبود افسردگی و کاهش درد ناشی از القای پارکینسون می‌شود که احتمالاً به اثرات آنتی‌اکسیدانی آن مربوط است [۱۷]. این مطالعه با هدف تعیین اثرات خوراکی عصاره هیدروالکلی گیاه کارده بر گلوکز خون و پارامترهای استرس اکسیداتیو در موش‌های نر دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انتخاب و در ۵ گروه ۸ تایی به‌صورت تصادفی تقسیم شدند. رت‌های هر ۵ گروه در شرایط یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذا و در سطحی با دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد و در رطوبت ۶۰-۵۵ و سیکل روشنایی تاریکی ۱۲ ساعت و به‌صورت هشت حیوان در هر قفس نگهداری شد. در طول مطالعه، نگهداری، انجام آزمایش‌ها و از بین بردن حیوانات، مطابق روش‌های استاندارد کار و اصول اخلاق با حیوانات بود (کد اخلاقی پژوهش: ۱۵۳۴۲۴۶۸۸۷۱۳۰۴). پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی موش‌ها از ساعت ۹ صبح تا ۲ بعدازظهر انجام شد.

گروه یک (کنترل): حیوانات این گروه سالم بودند.

گروه دو (دیابتی): برای ایجاد دیابت این گروه، داروی استرپتوزوتوسین ۷۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در بافر M ۰/۱ سیترات سدیم با PH=۴/۵ به‌صورت داخل‌صفاقی تزریق شد.

گروه‌های سوم، چهارم و پنجم (درمان): موش‌های صحرایی به همراه دریافت عصاره کارده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن در هر روز از طریق گاواژ به مدت دو هفته دیابتی شدند. در پایان دوره مطالعه، نمونه خون و بافت قلب از حیوانات گروه‌های مختلف اخذ و سطح سرمی قند خون، شاخص پراکسیداسیون چربی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت قلب اندازه‌گیری شد.

روش تهیه عصاره گیاه کارده

گیاه کارده در ابتدای فصل بهار از حوالی شهرستان ایذه جمع‌آوری و پس از شناسایی کارشناسان گیاه‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه استفاده شد (شماره هرباریوم: ۴۵۶۷۹). سپس برگ‌های آن جدا و در هوای آزاد و در سایه به مدت دو هفته خشک شد. پس از خشک شدن برگ‌ها مقدار یک کیلو توزین شد و توسط آسیاب‌برقی (شرکت پارس‌خزر ساخت ایران) به پودر بسیار ریز با قطر کمتر از ۰/۴ میلی‌متر تبدیل گردید. سپس پودر کارده به‌مدت ۷۲ ساعت در اتانول ۷۰ درجه و در دمای اتاق خیسانده شد. مخلوط پودر کارده و الکل هر روز به اندازه کافی و در چندین نوبت به‌هم زده شد. در پایان ۷۲ ساعت مخلوط الکل و پودر از صافی‌های ریزی عبور داده شد تا عصاره آن به‌دست آید. عصاره به‌دست‌آمده در خلاء تحت تقطیر قرار گرفت تا الکل آن به‌طور کامل تبخیر شد. در پایان پس از تبخیر الکل، عصاره به‌صورت پودر قهوه‌ای به‌دست آمد. درجه خلوص عصاره با روش دی‌فنیل پیکریل هیدارزیل(DPPH) ۲۸ درصد محاسبه گردید [۱۸]. آماده کردن نمونه بافتی: پس از شستشوی نمونه بافتی با استفاده از بافر فسفات (PH, PBS= ۷/۴)، ۱ گرم از بافت قلب در ۵ میلی‌لیتر بافر سرد (شامل Tris-Hcl ۵۰ میلی‌مولار و EDTA ۱۵ میلی‌مولار با PH برابر ۷/۵) هموژنیزه شد. سپس محلول حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع رویی حاصل برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت [۱۹].

مطالعه بیوشیمیایی

اندازه‌گیری قند خون: مقادیر سرمی قند خون ناشتا هم در ابتدای مطالعه و هم در پایان دوره مطالعه با استفاده از دستگاه گلوکومتر (ACCUACHEK , USA) اندازه‌گیری شد. برای اطمینان از القای دیابت پس از گذشت ۷۲ ساعت، ضمن خون‌گیری از ناحیه دم موش‌ها با استفاده از نوار گلوکویاب و دستگاه اندازه‌گیری قند خون (نمونه GM10Bionim rightet شرکت خسرو مدیسا طب ایران)، میزان قند خون بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر موش‌های دیابتی در نظر گرفته شد [۲۰].

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA): ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از هموژنیزاسیون بافت قلب به ۳ میلی‌لیتر فسفوریک‌اسید ۱٪ و ۱ میلی‌لیتر TBA ۰/۶٪ و ۰/۱۵ میلی‌لیتر از هیدروکسی تولون بوتیره ۲۰٪ در متانول ۹۵٪ مخلوط شده در بن‌ماری جوش ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد و ۴ میلی‌لیتر ۱-بوتانل اضافه گردید و با دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید [۲۱].

اندازه‌گیری گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX): آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را توسط کومن هیدروپراکسید (Cumene Hyroperoxide) کاتالیز می‌کند. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتازو NADPH، گلوتاتیون اکسیدشده (GSSG) مجدداً به گلوتاتیون احیا می‌شود که این احیا با اکسیداسیون همزمان NADPH به $NADP^+$ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. این فاکتور با استفاده از کیت آزمایشگاهی RANSOD (Randox انگلستان) اندازه‌گیری شد [۲۲].

اندازه‌گیری سوپراکسید دسموتاز (SOD): نقش آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) تسریع تبدیل رادیکال سوپراکسید تولیدشده در طی فرآیندهای اکسیداتیو به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی است. در ایـن روش اندازه‌گیری از گزانتین (Xanthine) و گزانتین اکسیداز (Oxidase Xanthine) برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده شده است. سپس این رادیکال‌های پراکسید با INT (فنیل‌تترازولیوم‌کلراید-۵-(نیتروفنل-۴)-۳-(یدوفنل-۴)-۲) برای تشکیل رنگ قرمز فورمازان واکنش می‌دهد. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰ درصد سرعت واکنش I.N.T تحت شرایط اندازه‌گیری می‌شود [۲۳].

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC): ABTS 2,2′-Azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid با یک پراکسیداز و آب اکسیژنه مجاور می‌شود تا رادیکال‌های $ABTS^+$ تولید نماید. این ماده، رنگ آبی – سبز دارد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. این فاکتور با استفاده از کیت آزمایشگاهی RANSOD TOTAL ANTIOXIDANT (Randox انگلستان) اندازه‌گیری شد [۲۴].

روش‌های آماری

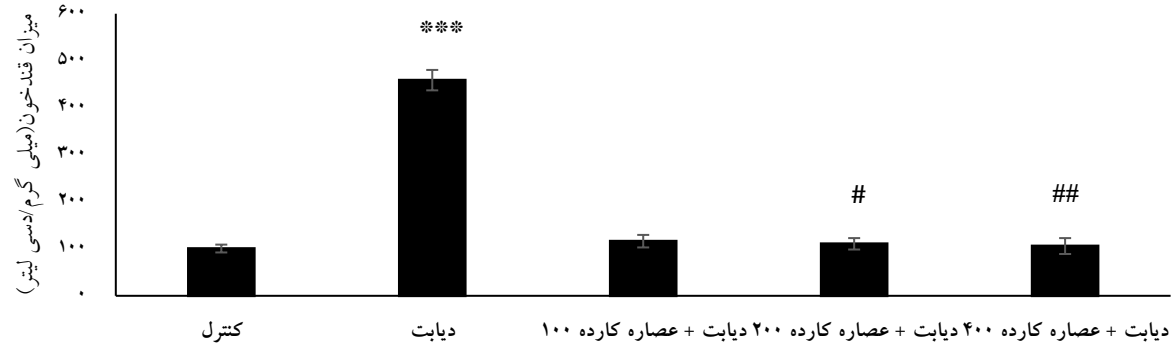
داده‌های این تحقیق به‌صورت Mean±SEM ارائه شدند و سپس با روش‌های مناسب آماری در محیط‌های نرم‌افزارهای Excel و SPSS و با استفاده از روش ANOVA و با آزمون تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

یافته‌های به‌دست‌آمده از میزان قند خون، غلظت مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX)، فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز (SOD) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) در پنج گروه مورد بررسی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

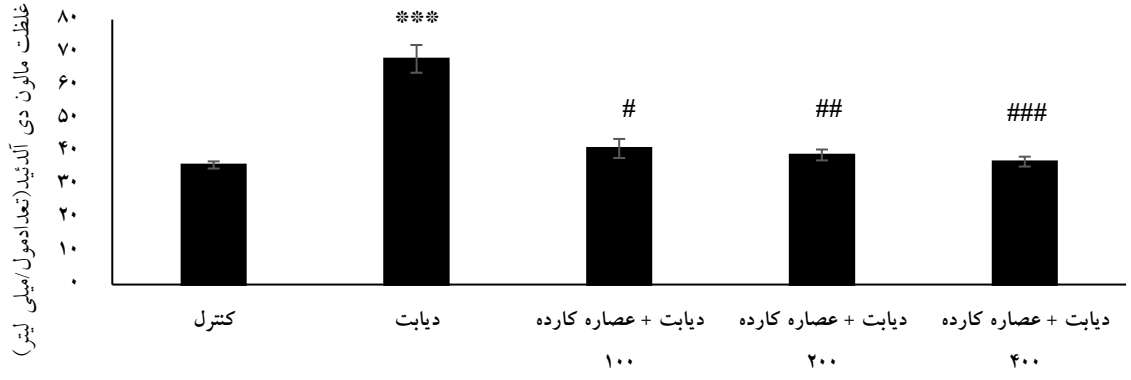
جدول شماره ۱- مقایسه میزان قند خون، غلظت MDA، فعالیت آنزیم GPX، فعالیت آنزیم SOD و ظرفیت TAC بین پنج گروه

گروه متغیر	سالم	دیابتی	دیابتی + کارده ۱۰۰	دیابتی + کارده ۲۰۰	دیابتی + کارده ۴۰۰
قند خون	۱۰۰/۸±۵۶/۳۶	۴۵۸/۲۱±۷۲/۷۲	۱۱۶/۱۳±۲۱/۳۳	۱۱۰/۱۲±۶۱/۱۶	۱۰۵/۱۶±۸۴/۹۲
مالون‌دی‌آلدئید	۳۶/۱±۱۱/۰۸	۶۸/۴±۱۴/۱۹	۴۱/۲±۰۹/۸۸	۳۹/۱±۱۳/۶۵	۳۷/۱±۱۲/۴۹
سوپراکسید دسموتاز	۵۰/۱±۳۳/۲۲	۳۴/۴±۲۰/۱۱	۴۶/۳±۹۷/۱۹	۴۷/۲±۵۱/۹۸	۴۹/۲±۳۴/۶۷
گلوتاتیون پراکسیداز	۷۴/۱±۱۱/۰۵	۵۳/۲±۱۹/۳۶	۶۸/۱±۶۵/۸۵	۷۱/۱±۱۹/۹۲	۷۲/۱±۰۹/۱۱
ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی	۰±۴۳/۰۱	۰±۴۰/۰۵	۰±۵۸/۰۴	۰±۶۰/۰۳	۰±۶۲/۰۲



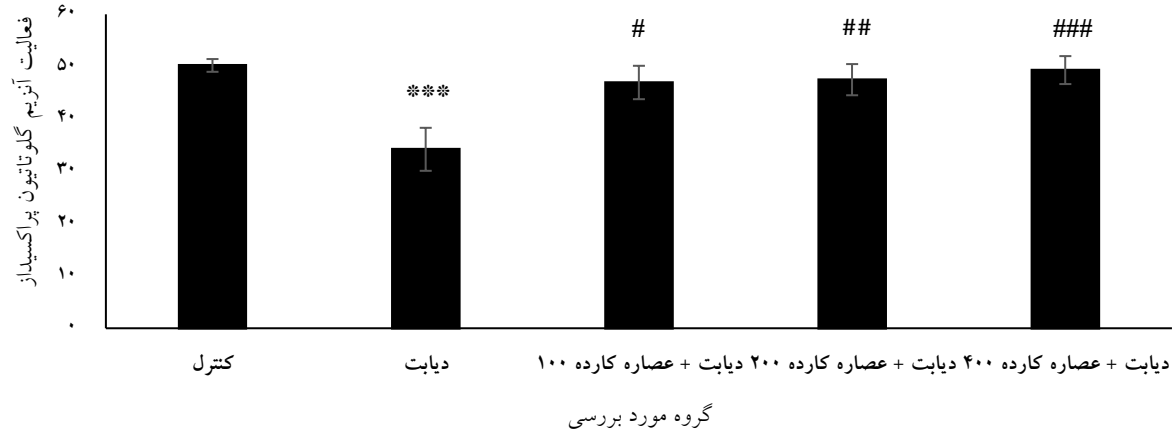
نمودار شماره ۱- مقایسه میزان قند خون بین پنج گروه. (علامت *** نشانگر تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $P<۰/۰۰۱$ و علائم # و ## نشانگر تفاوت معناداری به‌ترتیب در سطح $P<۰/۱$ و $P<۰/۰۱$ با گروه دیابتی)

نتایج نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که میانگین قند خون در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بوده است و تجویز خوراکی عصاره کارده برای مدت دو هفته در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌داری در سطح قند خون نسبت به گروه دیابت شده است.



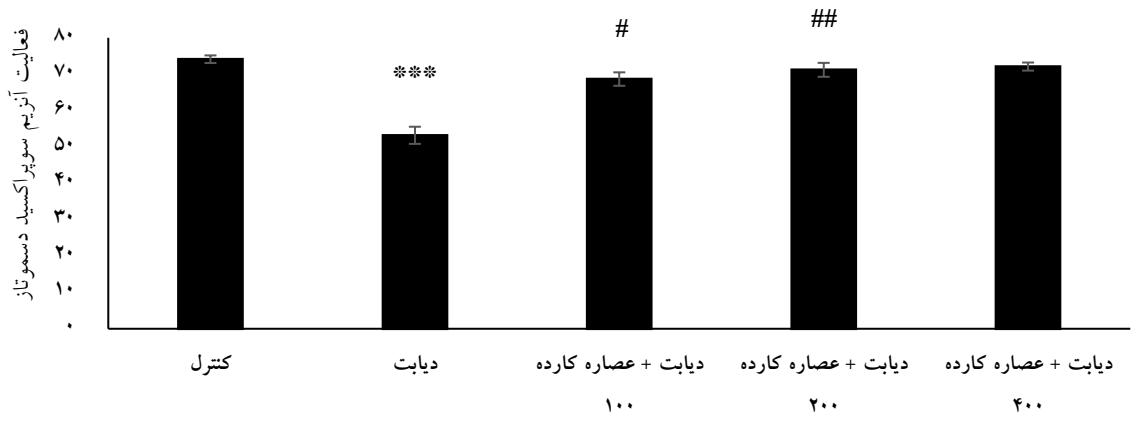
نمودار شماره ۲- مقایسه غلظت مالون‌دی‌آلدئید بین پنج گروه. (علامت *** نشانگر تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $P<۰/۰۰۱$ و علائم #، ## و ### نشانگر تفاوت معناداری به‌ترتیب در سطح $P<۰/۱$، $P<۰/۰۱$ و $P<۰/۰۰۱$ با گروه دیابتی)

نتایج نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد که میانگین مالون‌دی‌آلدئید در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بوده است و تجویز خوراکی عصاره کارده برای مدت دو هفته در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌داری در سطح مالون‌دی‌آلدئید نسبت به گروه دیابت شده است.



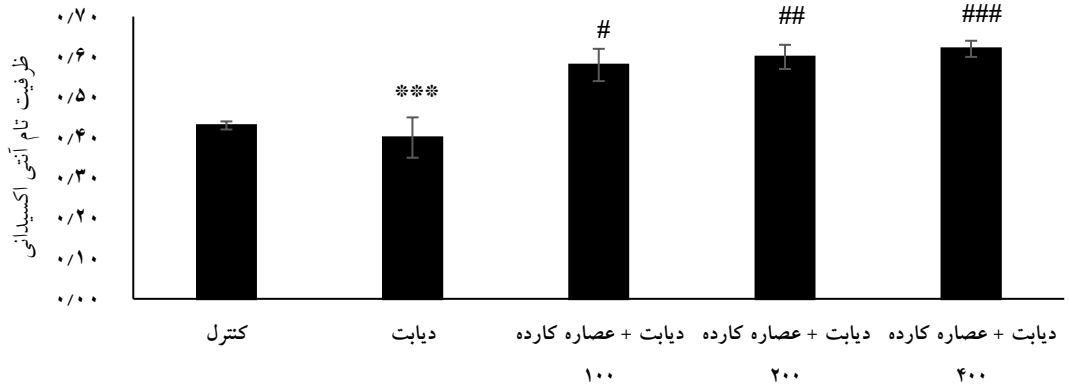
نمودار شماره ۳- مقایسه فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) بین پنج گروه. (علامت *** نشانگر تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $P<۰/۰۰۱$ و علائم ## و ### نشانگر تفاوت معناداری به ترتیب در سطح $P<۰/۰۱$ و $P<۰/۰۰۱$ با گروه دیابتی)

نتایج نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد که میانگین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بوده است و تجویز خوراکی عصاره کارده برای مدت دو هفته در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز نسبت به گروه دیابت شده است.



نمودار شماره ۴- مقایسه فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز (SOD) بین پنج گروه. (علامت *** نشانگر تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $P<۰/۰۰۱$ و علائم # و ## نشانگر تفاوت معناداری به ترتیب در سطح $P<۰/۱$ و $P<۰/۰۱$ با گروه دیابتی)

نتایج نمودار شماره ۴ نشان می‌دهد که میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بوده است و تجویز خوراکی عصاره کارده برای مدت دو هفته در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز نسبت به گروه دیابت شده است.



نمودار شماره ۵- مقایسه ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) بین پنج گروه. (علامت *** نشانگر تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $P<۰/۰۰۱$ و علائم #، ## و ### نشانگر تفاوت معناداری به‌ترتیب در سطح $P<۰/۱$، $P<۰/۰۱$ و $P<۰/۰۰۱$ با گروه دیابتی)

نتایج نمودار ۵ نشان می‌دهد که میانگین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بوده است و تجویز خوراکی عصاره کارده برای مدت دو هفته در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی نسبت به گروه دیابت شده است.

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که القای دیابت با استرپتوزوتوسین موجب افزایش معنی‌دار قند خون در حیوانات گردید. علاوه‌بر این، دیابت باعث افزایش معنی‌دار میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با گروه کنترل شد. به‌خوبی شناخته شده است که استرپتوزوسین با تخریب سلول‌های بتا موجب افزایش قند خون می‌شود که این نتایج با پژوهش‌های قبلی مطابقت دارد [۲۵]. همچنین تیمار حیوانات دیابتی با عصاره کارده موجب کاهش معنی‌دار غلظت سرمی گلوکز نسبت به گروه دیابتی گردید که با نتایج مطالعات قبلی سازگاری دارد. در این مطالعات نشان داده شده است که تیمار موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوسین با ترکیبات

آنتی‌اکسیدان به‌طور معنی‌داری قند خون حیوانات را در مقایسه با گروه دیابتی کاهش داده است [۲۷،۲۶]. گزارش شده است که استرس اکسیداتیو موجب کاهش سنتز و ترشح انسولین می‌گردد [۲۸]. بنابراین اثر هیپوگلیسمیک عصاره کارده شاید به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی آن در محافظت از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس و افزایش ترشح انسولین باشد. ولی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داده‌اند که عصاره کارده می‌تواند فاکتورهایی از قبیل قند خون و پروفایل چربی را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش دهد. در نتیجه‌ی مطالعاتی که بر روی عصاره کارده صورت گرفته، مشخص شده است که دارای فعالیت‌های ضدّمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدّپلاکتی و ضدّسرطان می‌باشد [۲۹]. در مطالعه حسینی و همکاران نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کارده از طریق سه آزمون مهار رادیکال آزاد، DPPH شلاته‌کنندگی و کاهندگی فلزات نشان داده شد و گزارش شد که عصاره کارده در مهار DPPH و قدرت احیاکنندگی و کاهندگی آهن به‌ترتیب بهتر از BHT و آلفاتوکوفرول است [۳۰]. اخیراً شواهدی مبنی بر فراوانی شیوع اختلالات و آسیب‌های قلبی در بیماران دیابتی گزارش شده است. در حقیقت دیابت یک فاکتور خطر مستقلی برای نارسایی قلبی محسوب می‌شود. در بیماری دیابت آنتی‌اکسیدان‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌دلیل گلیکوزیلاسیون یا افزایش فرآورده‌های اکسیداسیون لیپیدی کاهش می‌یابد [۳۱]. همچنین افزایش گلیکوزیلاسیون غیرآنزیمی به‌دنبال هیپرگلیسمی شاید دلیل احتمالی عوارض عروقی در بیماری دیابت باشد [۳۲]. MDA فرآورده اصلی پراکسیداسیون است و افزایش MDA شاخص مهمّ پراکسیداسیون چربی است [۳۳]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان MDA بافت قلب در رت‌های گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است، اما عصاره کارده توانسته است شاخص پراکسیداسیون را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی کاهش دهد. کاهش شاخص پراکسیداسیون چربی در گروه تیمار را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره کارده نسبت داد. این اثر را می‌توان به تجزیه رادیکال‌های آزاد با خنثی کردن گونه‌های واکنشی اکسیژن و یا به دام انداختن رادیکال‌ها قبل از رسیدن به سلول‌های هدف‌شان نسبت داد [۳۴]. همچنین با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار خوب عصاره کارده و اثر مفید آن در کاهش چربی و فاکتور ضدّآتروژنیک، احتمالاً به‌طور مستقل علائم دیابت و همچنین خطرات و عواقب چربی خون را نیز کاهش می‌دهد.

تحقیقات نشان داده‌اند که فلاونوئیدهای موجود در عصاره گیاه کارده به دلیل دارا بودن خاصیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، با آنیون هیدروکسیل، رادیکال فنوکسیل و اسید هیپوکلر واکنش داده، از پراکسیداسیون لیپیدی که به وسیله رادیکال‌های آزاد در میتوکندری القا می‌شود، جلوگیری به عمل می‌آورند. همچنین نتایج مطالعه حاضر مشخص نمود که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GPX، SOD، TAC در بافت قلب رت‌های دیابتی‌شده در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. گزارش شده است که دیابت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کاهش می‌دهد که احتمالاً به‌دلیل افزایش درگیری آن‌ها در مقابله با استرس اکسیداتیو بیش از حد در موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد. در حالی‌که تجویز خوراکی عصاره کارده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GPX، SOD، TAC نسبت به گروه دیابتی شده است. این نتایج موافق مطالعاتی است که گزارش می‌دهند هیپرگلیسمی با استرس اکسیداتیو همراه است [۳۵].

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره کارده قادر است از افزایش قند خون در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری نماید، همچنین می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت قلب در رت‌های دیابتی تأثیر معنی‌دار داشته باشد. مهم‌ترین محدودیت پژوهش، استفاده از نمونه‌های حیوانی بود که به‌دلیل رعایت ملاحظات اخلاقی و ایمنی از نمونه‌های انسانی استفاده نشد. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که با انجام تست‌های تکمیلی و مطالعات in vivo از مواد گیاهی مورد سنجش در درمان بیماری استفاده شود. همچنین پیشنهاد می‌شود که این میوه به‌عنوان یک داروی گیاهی به‌کار گرفته شود، چراکه داروهای شیمیایی دارای اثرات جانبی می‌باشند و نیز پیشنهاد می‌شود که استفاده از این مواد گیاهی در رژیم‌های غذایی خانواده‌های ایرانی افزایش پیدا کند.

تشکر و قدردانی

مؤلفان، مراتب سپاس خود را از ریاست محترم مؤسسه آموزش عالی مهرآیین در جهت مساعدت و همکاری لازم برای انجام این مطالعه، ابراز می‌دارند.

References:

[1] Risbridger G, Wang H, Young P, Kurita T, Wang YZ, Lubahn D, et al. Evidences that epithelial and mesenchymal estrogen receptor alpha mediates effects of estrogen on prostatic epithelium. ***Dev Biol*** 2001; 229(2): 432-42.

[2] Karabag-Coban F, Hazman O, Bozkurt MF, Ince S. Antioxidant status and anti-inflammatory effects of

oleuropein in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. ***Eur J Med Plants*** 2017; 18(2): 1-10.
[3] Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. ***Diabetes*** 1999; 48(1): 1-9.
[4] Meyer K, Deutscher J, Anil M, Berthold A, Bartsch G, Kiess W. Serum androgen levels in adolescents with type I diabetes: Relationship topubertal stage and metabolic control. ***J Endocrinol Invest*** 2000; 23: 362-8.
[5] Kumar S, Malhotra R, Kumar D. Antidiabetic and free radical scavenging potential of Euphorbia Hirta flower extract. ***Indian J Pharm Sci*** 2010; 72(4): 533-7.
[6] Jemai H, Sayadi S. Heart histopathology and oxidative features in diabetic rats and protective effects of oleuropein. ***Adv Biosci Biotechnol*** 2015; 6(6): 383-9.
[7] Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. ***Clin Chim Acta*** 2004;340:107-15.
[8] Ulusu NN, Sahilli M, Avci A, Canbolat O, Ozansoy G, Ari N, et al. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. ***Neurochem Res*** 2003;28:815-23.
[9] Garcia YJ, Rodriguez-Malaver AJ, Penaloza N. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. ***J Neurosci Method*** 2005; 144:127-35.
[10] Anup KM, Smriti T, Zabeer A, Ram KS. Antidiabetic and antihhyperlipidemic effect of *Euphorbia hirta* in Streptozotocin induced diabetic rats. ***Scholar Res Library*** 2020; 4(2): 703-7.
[11] Peter C. A taxonomic revision of Biarum Arac. ***J Inter Aroid Society*** 2006; 29: 2-36.
[12] Williams CA, Harborne JB. Anthocyanin pigments and leaf flavonoids in the family Araceae. ***Phytochemistry*** 1981; 20: 217-234.
[13] Hegnauer R. Phytochemistry and chemotaxonomy of the Araceae. ***Aroideana*** 1987; 10: 17.
[14] Havsten B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. ***J Biochem Pharmacol*** 1983. 13: 1141-8.
[15] Sowndhararajan K, Joseph JM, Manian S. Antioxidant and free radical scavenging activities of Indian Acacias: *Acacia leucophloea* (Roxb.) Willd., *Acacia ferruginea* DC, *Acacia dealbata* Link And *Acacia pennata* (L.) ***Willd – Int J Food Prop*** 2013; 16: 1717-1729.
[16] SeifiZangeneh M, Rafieirad M, Sazgar H. The effect of Kardeh (*Biarum bovei*) hydro-alcoholic extract on pain threshold in STZ induced diabetic rats. ***J Herb Drug*** 2015; 6(3): 137-42.
[17] Mahmoodi R, zanganehnejad Z, Setorki M. Protective effect of *Biarum carduchrum* extract on depression and pain in Parkinson's model induced by 6-hydroxydopamine in rats. ***Nbr*** 2019; 5(4): 365-71.
[18] Setorki M, Hooshmandi Z, Zanganehnejad Z. The effects of *Biarum carduchrum* hydroalcoholic extract on oxidative stress and catalepsy in the 6-hydroxydopamine-induced rat model of Parkinson's disease. ***J Adv Med Biomed Res*** 2019; 27(120):8-13.
[19] Kashefimehr SH, Nasirzadeh MR. Oleuropein cardioprotection effect against oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic male rats. ***J Shahid Sadoughi Uni Med Sci*** 2019; 27(3): 1372-80
[20] Rafieirad, M, Valipor chardahcherik S. Gallic acid improves the memory and pain in diabetic rats. ***J Yafteh*** 2013; 15: 33-41.
[21] Naderi R, Mohaddes G, Mohammadi M, GhaznaviR, Ghyasi R, Vatankhah AM. Voluntary Exercise Protects Heart From Oxidative Stress In Diabetic Rats. ***Adv Pharm Bull*** 2015; 5(2): 231-6.
[22] Nekooeian AA, Khalili A, Khosravi M. oleuropein offers cardioprotection in rats with simultaneous Type 2 diabetes and renal hypertension. ***Indian J Pharmacol*** 2014; 46(4): 398-403.
[23] Somi MH, Hajipour B, Asl NA, Estakhri R, Azar AN, Zade MN, et al. Pioglitazone attenuates ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats. ***Transplant Proc*** 2009; 41(10): 4105-9.
[24] Kurcer Z, Oguz E, Ozbilge H, Baba F, Aksoy N, Celik H, et al. Melatonin protects from ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats: this effect is not mediated by proinflammatory cytokines. ***J Pineal Res*** 2007; 43(2): 172-8.
[25] Nasirzadeh MR, Nourazar A, Khalili Moghadam S, Mohammadiani M. Effect of alcoholic extract *Ofeuphorbia cyparissias* on the brain antioxidant enzymes in streptozotocin induced diabetic male rats. ***Feyz*** 2014; 18(3): 194-200. [In persion]
[26] Alimohammadi S, Hobbenaghi R, Javanbakht J, Kheradmand D, Mortezaee R, Tavakoli M, et al. Protective and antidiabetic effects of extract from *Nigella sativa* on blood glucose concentrations against streptozotocin (STZ)- induced diabetic in rats: an experimental study with histopathological evaluation. ***Diagn Pathol*** 2013; 8:137.
[27] Gandhi GR, Sasikumar P. Antidiabetic effect of *Merremia emarginata* Burm. F. in streptozotocin induced diabetic rats. ***Asian Pac J Trop Biomed*** 2012; 2(4): 281-6.
[28] Jemai H, Sayadi S. Heart histopathology and oxidative features in diabetic rats and protective effects of Oleuropein. ***Adv Biosci Biotech*** 2015; 6(6): 383-9.
[29] Valizadeh Z, Rafieirad M. Effects of hydro-alcoholic leaf extract of Kardeh (*Biarum bovei* Blume) on the Blood Glucose and Lipid Peroxidation in Cerebral Tissues and Lipid Profile in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. ***IJDO*** 2016; 8 (1) :16-23.

[30] Hosseini E, Rousta E, Tabib Loghmany F, Mahmoudpour M. In vitro antioxidant activity of hydromethanolic extract of Karde (*Biarum carduchrum*) and its effects on the serum lipids of rats. ***Iranian J Nutr Sci Food Technol*** 2014; 9(3): 1-8.
[31] Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. ***Cardiovasc Ther*** 2012; 30(1): 49-59.
[32] Ahmadvand H , Bagheri S , Tamjidi-Poor A , Cheraghi M , Azadpour M , Ezatpour B, et al. Biochemical effects of oleuropein in gentamicininduced nephrotoxicity in rats. ***ARYA Atheroscler*** 2015; 12(2): 87-93.
[33] Esteghamati A, Zarban A, Doosti M. Evaulation of antioxidant status and oxidative stress markers in type II diabetes mellitus. ***Iranian J Endocrinol Metabol*** 2001; 3 (4):239-45
[34] Karabag-Coban F, Hazman O, Bozkurt MF, Ince S. Antioxidant status and anti-inflammatory effects of oleuropein in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. ***Eur J Med Plants*** 2017; 18(2): 1-10.
[35] Kondeti VK, Badri KR, Maddirala DR, Thur SK, Fatima SS, Kasetti RB, et al. Effect of *Pterocarpus santalinus* Bark, on blood glucose, serum lipids, and plasma insulin and hepatic carbohydrate metabolic enzymes in streptozotocin induced diabetic rats. ***Food Chem Toxicol*** 2010; 48(5): 1281-7.