

اثر عصاره گیاه گلدر (*Otostegia persica*) بر سطح سرمی گلوکز و مورفولوژی پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی

مهدیه هدایتی^۱ (M.Sc)، ایران پورابولی^{۲*} (Ph.D)، بتول پورابولی^۳ (M.Sc)، شهریار دبیری^۴ (M.D)، عبدالرضا جوادی^۵ (M.D)

۱- دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

۲- دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی و هسته تحقیقاتی سلول و غدد درون‌ریز

۳- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده پرستاری

۴- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه پاتولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی

۵- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه پاتولوژی

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه گلدر (*Otostegia persica*) و نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در بهبود دیابت، در این مطالعه اثر عصاره متانولی این گیاه بر سطح سرمی گلوکز و مورفولوژی پانکراس در موش‌های صحرایی نر دیابتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: با تزریق استرپتوزوتوسین (۶۵ mg/kg, i.p) در موش‌های صحرایی نر ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم) دیابت نوع I ایجاد شد. قبل از تزریق و ۵ روز بعد، خون‌گیری انجام و موش‌هایی که گلوکز ناشتا آن‌ها بیش از ۲۵۰ mg/dL بود، دیابتی محسوب شدند و عصاره گلدر (۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ mg/kg/day)، گلابین کلامید (۶۰۰ μg/kg) و آب مقطر به مدت ۱۴ روز جداگانه به روش گاواژ دریافت کردند. بعد از ۱۴ روز، خون‌گیری انجام و سطح سرمی گلوکز به روش اسپکتروفتومتری و انسولین به روش ELISA سنجش شد. همچنین، پانکراس حیوانات خارج و بعد از طی مراحل تثبیت، آماده‌سازی و رنگ‌آمیزی به روش H&E، مورد بررسی بافت‌شناسی قرار گرفت.

یافته‌ها: تیمار موش‌های دیابتی با دوزهای مختلف عصاره گلدر سبب کاهش معنی‌دار سطح سرمی گلوکز شد ولی تنها دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره در افزایش سطح سرمی انسولین مؤثر بود ($P < 0.05$). ضمناً، عصاره سبب بهبود بافت پانکراس شد و میانگین تعداد جزایر در موش‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره و قطر میانگین جزایر در موش‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg عصاره افزایش یافت ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری: عصاره گیاه گلدر دارای اثر هیپوگلیسمیک می‌باشد و این اثر خود را از طریق بهبود جزایر پانکراس و افزایش ترشح انسولین انجام می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: دیابت شیرین، گیاه گلدر، گلوکز، لوزالمعده، انسولین

مقدمه

می‌شوند [۲] که در طولانی مدت سبب آسیب چشم، اعصاب، کلیه و رگ‌های خونی می‌شود [۳]. لذا کنترل مؤثر قند خون، برای به تأخیر انداختن مشکلات ناشی از دیابت و بهبود وضع زندگی بیماران دیابتی اهمیت کلیدی دارد [۴]. گلابین کلامید

دیابت ملیتوس امروزه عامل مرگ و میر در بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته است [۱]. هایپرگلیسمی مزمن و گلوکزوریا، نشانه‌های تشخیص بالینی دیابت ملیتوس محسوب

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه. گیاه گلدر از جیرفت واقع در جنوب استان کرمان جمع‌آوری و توسط گیاه‌شناسان گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان شناسایی و مورد تایید قرار گرفت. بخش هوایی آن توسط آسیاب الکتریکی خرد شد. این پودر به مدت ۴۸ ساعت در متانول خیسانده شده و عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله انجام شد. حلال عصاره حاصله با دستگاه Rotaevaporator حذف و در نهایت توسط دستگاه فریز درایر در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد خشک گردید. راندمان عصاره‌گیری ۱۰٪ بود. این عصاره در آب مقطر با دوزهای مورد نظر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

حیوانات. حیوانات مورد مطالعه شامل ۳۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم بودند که از محل پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای مناسب و دسترسی کامل به آب و غذا در حیوان‌خانه گروه زیست‌شناسی نگهداری شدند. و کلیه قوانین اخلاقی مربوط به نگهداری و کار با این حیوانات در آزمایشگاه رعایت شد.

ایجاد دیابت و گروه‌های آزمایشی. برای ایجاد دیابت استرپتوزوتوسین (STZ, ۶۵mg/kg, i.p) به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۶]. ۵ روز پس از تزریق STZ با بی‌هوشی سطحی حیوانات ناشتا (از ۱۲ ساعت قبل تحت بی‌غذایی قرار داشتند) با اتر، نمونه‌های خونی از سینوس کاورنوزای چشم حیوان برای اندازه‌گیری سطح سرمی گلوکز و انسولین جمع‌آوری شد و میزان قند خون بلافاصله توسط دستگاه گلوکومتر (مدل Accu-check, Roch آلمان) اندازه‌گیری شد [۱۶] و موش‌هایی که گلوکز بالای ۲۵۰ mg/dl داشتند، دیابتی در نظر گرفته شده [۷] و به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: ۱- موش‌های دیابتی که به آنها ۰/۵ سی‌سی حلال عصاره (آب مقطر) به مدت ۱۴ روز خوراندند شد (گروه شاهد).

جزء سولفونیل اوره‌ها است که برای درمان دیابت نوع I و II به کار می‌رود. گلازین‌کلامید با بستن کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و دیپلاریزه کردن غشاء سبب باز شدن کانال‌های کلسیمی و افزایش ورود کلسیم به داخل سلول می‌شود. لذا از این طریق باعث تحریک سلول‌های بتا و افزایش ترشح انسولین می‌شود. در نتیجه، این دارو در کاهش قند خون مؤثر است اما استفاده از این دارو به خاطر ویژگی‌های فارماکوکینتیکی و عوارض ثانویه‌اش محدود شده است [۵، ۶].

گزارشات زیادی نشان می‌دهند که مصرف گیاهان دارویی خطر بروز بیماری‌های مزمن مانند دیابت را در انسان کاهش می‌دهند [۷]. تحقیقات نشان می‌دهد که بیش از ۸۰۰ گیاه مختلف به طور رایج در درمان دیابت استفاده می‌شود [۸، ۹]. اما تنها تعداد اندکی از آن‌ها مورد بررسی دقیق علمی قرار گرفته است [۱۰]. جنس *Otostegia* از تیره *Lamiaceae* شامل ۲۰ گونه است که در غرب آسیا پراکنده شده‌اند. گیاه گلدر (*Otostegia persica*) بومی ایران، پاکستان و افغانستان است [۱۱، ۱۲]. از این گیاه در طب سنتی ایران برای درمان دندان‌درد و آرتریت استفاده می‌شود [۱۲]. ضمناً عصاره هیدروالکلی آن سندروم ترک مورفین را بهبود می‌بخشد [۱۳]. گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنولی موجود در برخی گیاهان در بهبود عوارض ناشی از دیابت مفید هستند [۱۰]. *O.persica* دارای ترکیبات پلی‌فنولی قطبی مانند فلاونوئیدها و تانن‌هاست. فلاونوئیدها معمولاً با ترکیب با رادیکال‌های آزاد عمل آنتی‌اکسیدانی خود را انجام می‌دهند [۱۴]. گزارش شده است که عصاره متانولی *O.persica* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است [۱۵]. با توجه به نقش اثبات شده آنتی‌اکسیدان‌ها در بهبود بیماری دیابت، در این مطالعه اثر تجویز خوراکی مقادیر مختلف عصاره متانولی *O.persica* بر سطح سرمی گلوکز و تغییرات بافتی پانکراس در موش‌های نر دیابتی نوع I بررسی شد.

۲- موش‌های دیابتی که به آن‌ها گلايسين کلاميد با دوز $600 \mu\text{g/kg}$ به مدت ۱۴ روز خوراندند شد (گروه کنترل مثبت).

۳- موش‌های دیابتی که به آن‌ها عصاره متانولی *O.persica* با دوز 100 ، 200 و 300 mg/kg به مدت ۱۴ روز خوراندند شد (۳ گروه تیمار).

اندازه‌گیری انسولین پس از ۱۴ روز موش‌ها در حالت ناشتا با اتر عمیقاً بی‌هوش شده و سر موش‌ها توسط گیوتین قطع، و از ورید گردنی آن‌ها خون‌گیری انجام گردید [۶]. سرم نمونه‌های خون جمع‌آوری شده جدا گردید و در دمای 20°C - نگهداری شد. اندازه‌گیری گلوکز سرم به روش اسپکتروفتومتری با کیت مربوطه و اندازه‌گیری انسولین توسط کیت اندازه‌گیری انسولین موش صحرایی (شرکت مرکودیا سوئد) به روش ELISA انجام شد [۱۷].

بررسی بافت شناسی در همه گروه‌ها بعد از قطع سر حیوان و خون‌گیری، پانکراس حیوان خارج و در فرمالدئید ۱۰٪ قرار گرفت. برای آماده‌سازی نمونه‌ها برای مطالعات بافت‌شناسی تا مرحله قالب‌گیری از دستگاه تمام اتوماتیک Tissue processor (مدل TP1010، Leica آلمان) استفاده شد. سپس با استفاده از میکروتوم (مدل ۱۵۱۲، Liets آلمان) برش‌هایی به قطر $5-3 \mu\text{m}$ از نمونه‌ها تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و لام دائمی از نمونه‌ها برای مطالعات بافت‌شناسی تهیه شد. فاکتورهای کیفی مورد بررسی در بخش برون‌ریز پانکراس (آسینی‌ها) شامل ادم (افزایش فاصله بین لوبول‌ها و یا صفاق با بافت پانکراس و تجمع مایع و سلول‌های سیستم ایمنی در این فاصله‌ها)، آتروفی سلولی و پوشش مجاری (مشاهده سلول‌های با مورفولوژی آپوتوتیک، و رؤیت لاشه‌ها و اجزای سلولی در فضاهای خالی در قسمت‌های مختلف به طوری که بافت حالت حفره حفره پیدا کند) و در بخش درون‌ریز (جزایر) شامل حضور رسوب آمیلوئیدی در جزایر (رسوبات بی‌شکل و صورتی رنگ هستند که معمولاً در جداره عروق رسوب می‌کنند)، آتروفی و واکوئوله شدن جزایر (ایجاد واکوئول‌های

ریز و درشت در سیتوپلاسم و گاهی هسته سلول‌ها، معمولاً شروع آتروفی سلول را نشان می‌دهد) و نکروز (سیتوپلاسم سلول واکوئوله و به ائوزین بسیار رنگ‌پذیر و صورتی می‌شود) بود. هسته نیز دچار تغییراتی شامل: Karyolysis (باقی ماندن هاله‌ای از هسته)، Piknosis (فشرده شدن هسته) و یا Karyorrhexis (قطعه قطعه شدن هسته) می‌گردد که مورد توجه قرار گرفت.

از متغیرهای کمی مورد مطالعه در نمونه‌های بافتی تغییر تعداد و اندازه جزایر (قطر میانگین جزیره) بود که برای اندازه‌گیری متوسط تعداد جزایر پس از تهیه ۶ لام از هر گروه، ۵ فیلد را در بزرگ‌نمایی $100 \times$ میکروسکوپ به طور تصادفی انتخاب کرده و پس از شمردن تعداد جزایر در هر فیلد، متوسط آن به دست آمد. برای اندازه‌گیری متوسط میانگین قطر جزایر از هر لام ۵ جزیره را به طور تصادفی انتخاب و بعد با استفاده از میکروسکوپ گراتیکول‌دار در بزرگ‌نمایی $400 \times$ قطر کوچک و بزرگ هر جزیره برحسب میکرومتر تعیین و با قرار دادن اندازه‌ها در فرمول زیر، قطر میانگین هر جزیره محاسبه و سپس متوسط میانگین قطر جزایر در هر گروه محاسبه شد [۱۸].

$$MD = \sqrt{L \times S \times magnification}$$

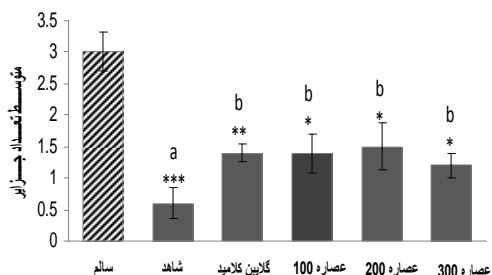
(MD: قطر میانگین، S: قطر کوچک جزیره، L: قطر بزرگ جزیره، magnificant: بزرگ‌نمایی عدسی).

آنالیز آماری. میانگین داده‌ها در هر گروه، قبل و بعد از دریافت STZ و بعد از دریافت عصاره یا حلال آن (آب مقطر) با آزمون Paired T-test مقایسه شدند. مقایسه بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده عصاره با آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و پس‌آزمون Tukey انجام و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد و داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ گزارش شده است.

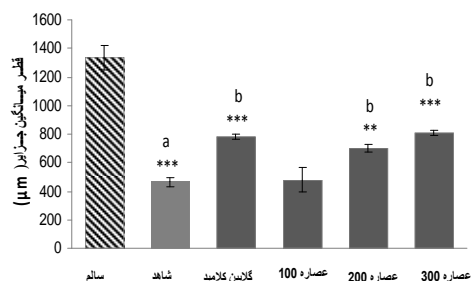
نتایج

مقایسه سطح سرمی گلوکز در موش‌های سالم با موش‌های دیابتی نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار گلوکز پس از

میانگین سطح سرمی انسولین در گروه دیابتی دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره و گلابین کلامید به مدت ۱۴ روز به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش یافت، اگرچه تجویز سایر دوزهای عصاره باعث افزایش سطح سرمی انسولین شد اما این افزایش معنی دار نیست (شکل ۲).



شکل ۳. اثر تجویز خوراکی دوزهای (۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ mg/kg) عصاره و گلابین کلامید ($600 \mu\text{g/kg}$) در ۱۴ روز بر میانگین تعداد جزایر پانکراس. * $p < 0.05$ ، *** $p < 0.001$. a: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم می باشد. b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیابتی می باشد.

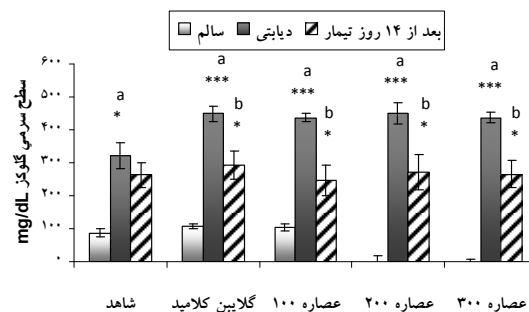


شکل ۴. اثر تجویز خوراکی دوزهای مؤثر در کاهش سطح سرمی گلوکز ($600 \mu\text{g/kg}$) در ۱۴ روز بر میانگین قطر جزایر پانکراس. * $p < 0.001$ ، *** $p < 0.001$. a: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم می باشد. b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیابتی می باشد.

میانگین تعداد جزایر در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره و گلابین کلامید، هم‌چنین قطر میانگین جزایر در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg عصاره

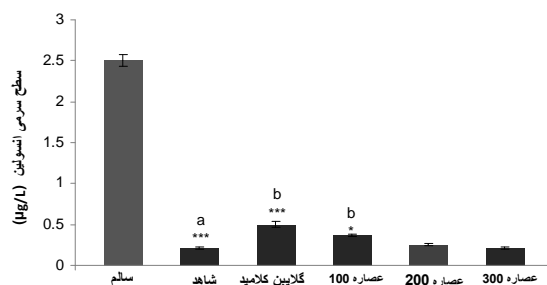
القاء دیابت می‌باشد. میانگین سطح سرمی گلوکز ناشتا در موش‌های دیابتی دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ mg/kg) و گلابین کلامید به مدت ۱۴ روز به طور معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به موش‌های دیابتی کاهش یافت (شکل ۱).

مقایسه سطح سرمی انسولین، میانگین تعداد و قطر جزایر در موش‌های سالم با گروه شاهد (دیابتی دریافت‌کننده آب مقطر) نشان‌دهنده کاهش معنی دار ($P < 0.05$) سطح سرمی انسولین، میانگین تعداد و قطر جزایر در گروه شاهد می‌باشد (شکل‌های ۳، ۲ و ۴).



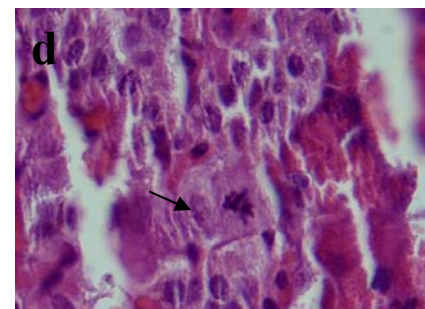
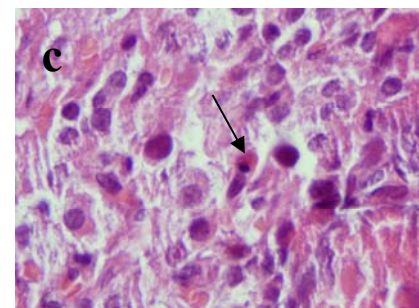
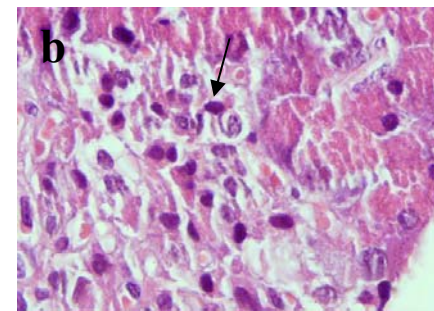
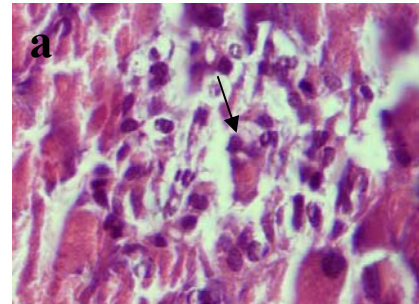
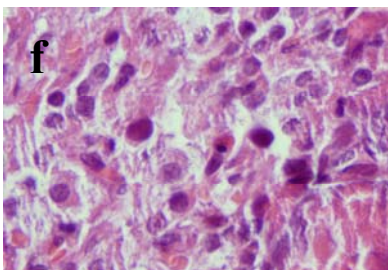
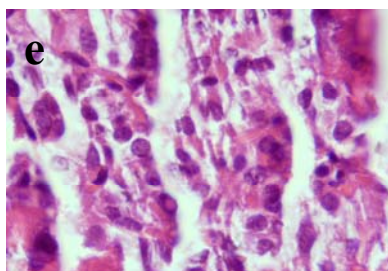
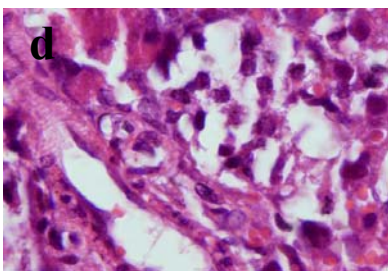
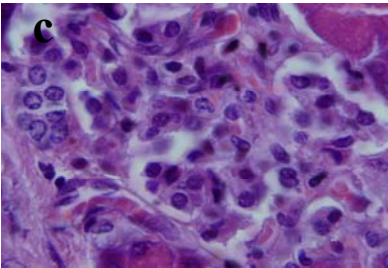
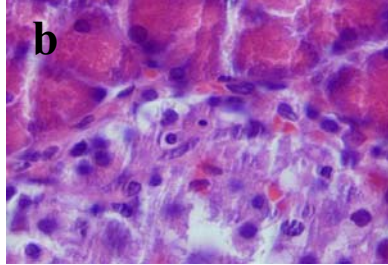
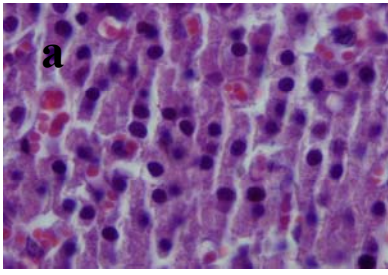
گروه‌ها

شکل ۱. اثر تجویز خوراکی مقادیر مختلف *O. persica* (۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ mg/kg) و گلابین کلامید ($600 \mu\text{g/kg}$) به مدت ۱۴ روز بر سطح سرمی گلوکز در گروه‌های مختلف ($n = 6$)، $p < 0.05$ ، * $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$. a: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم می باشد. b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیابتی می باشد.



شکل ۲. اثر تجویز خوراکی مقادیر مختلف *O. persica* (۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ mg/kg) و گلابین کلامید ($600 \mu\text{g/kg}$) به مدت ۱۴ روز بر سطح سرمی انسولین در گروه‌های مختلف ($n = 6$)، * $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$. a: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سالم می باشد. b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیابتی می باشد.

و گلاپین کلامید به مدت ۱۴ روز نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش یافت (شکل های ۳ و ۴). بررسی و مشاهده اسلایدهای بافتی تهیه شده از گروه های مختلف نشان داد که عصاره و گلاپین کلامید سبب بهبود بافت پانکراس در موش های دیابتی گردیدند (جدول ۱ و شکل های ۵ و ۶).



شکل ۶. مقاطع رنگ آمیزی شده بافت پانکراس در گروه های مختلف. نرمال (a)، دیابتی (b)، دیابتی تیمار شده با عصاره متانولی *O. persica* در دوزهای ۱۰۰ mg/kg (c)، ۲۰۰ mg/kg (d)، ۳۰۰ mg/kg (e) و گلاپین کلامید (f) به مدت ۱۴ روز. رنگ آمیزی به روش H&E و بزرگنمایی ۱۰۰۰ X است.

شکل ۵. تغییرات هسته در سلول های جزایر پانکراس موش های دیابتی. (a) پیکنوز، (b) کاربولیز، (c) آپوتوز و (d) کاربورکسی را نشان می دهد. رنگ آمیزی به روش H&E و بزرگنمایی ۱۰۰۰ X است.

جدول ۱. تغییرات مورفولوژیکی بافت پانکراس (بخش‌های درون ریز و برون ریز) در گروه‌های سالم، دیابتی، دیابتی دریافت‌کننده عصاره و گلابین کلامید

در طی ۱۴ روز

گروه‌ها مشاهده میکروسکوپی	سالم	دیابتی	تیمار			
			گلابین کلامید و عصاره (۱۰۰)	گلابین کلامید و عصاره (۲۰۰)	گلابین کلامید و عصاره (۳۰۰)	دیابتی + گلابین کلامید
آتروفی جزایر	-	++	+	±	+	++
واکوئوله شدن جزایر	-	+	+	+	+	+++
نکروز سلول‌های جزیره	-	+	±	-	-	+
تغییرات هسته	-	±	±	+	±	++
وجود رسوب آمیلوئیدی	-	-	-	-	-	-
ادم بین لوبولی	-	++	+	+	+	+
ادم صفاق	-	++	+	+	+	+
آتروفی جزء آسینار	-	++	±	±	+	++
آتروفی پوشش مجاری	-	++	+	+	±	++
پر خونی رگ‌ها	-	±	++	++	++	+

بیماران دیابتی سبب ایجاد استرس اکسیداتیو می‌گردد. پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهند که تیمارهای آنتی‌اکسیدان عوارض دیابت را کاهش می‌دهد [۱۰]. ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای نقش آنتی‌هایپرگلیسمیک می‌باشند [۴]. طبق بررسی‌هایی انجام شده عصاره متانولی *O.persica* به دلیل دارا بودن فلاوونوئیدهای Morin و Quercetin فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد [۱۵] و از تخریب DNA سلول‌ها جلوگیری می‌کند [۲۳]. کورستین قادر به جمع‌آوری رادیکال‌های گزانتین سوپراکسید و گزانتین اکسید است [۲۴]. این فلاوونوئید از طریق کاهش استرس اکسیداتیو در بهبود سختی عروق و آب مروارید ناشی از دیابت مفید است [۲۵]. یک‌سری از تحقیقات نشان می‌دهد که این فلاوونوئید قادر به افزایش سطح سرمی انسولین و کلسیم خون است [۲۶]. به طور کلی فلاوونوئید Morin موجود در گیاهان خانواده Moraceae، غیرسمی است و اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌آلرژیک، ضدالتهاب، ضد موتاسیون و ضدسرطانی دارد [۲۷]. Quercetin موجود در *O.persica* علاوه بر فعالیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد از توانایی مهار لیپاز پانکراسی

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه *O.persica* دارای اثرات هیپوگلیسمیک می‌باشد و این اثر خود را از طریق بهبود بافت پانکراس، افزایش تعداد و میانگین قطر یا اندازه جزایر و افزایش ترشح انسولین انجام می‌دهد. استرپتوزوتوسین آنتی‌بیوتیکی است که به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مکرراً برای ایجاد دیابت تجربی نوع I و یا عوارض ناشی از دیابت نوع II در موش‌های صحرایی استفاده می‌شود [۱۰]. این دارو با تولید سیتوکین‌ها و رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد التهاب و تخریب سلول‌های بتای پانکراس شده و در نتیجه سبب ایجاد دیابت نوع I می‌شود [۲۰، ۱۹]. در این بررسی مطابق با تحقیقات دیگر تخریب سلول‌های بتا با استرپتوزوتوسین، سبب کاهش سطح سرمی انسولین و در نتیجه هایپرگلیسمی شد [۲۱]. گزارش شده است که تجویز خوراکی دوزهای ۲۰۰ mg/kg، ۳۵۰ و ۵۰۰ عصاره اتانولی گلدر به مدت ۳ هفته سبب کاهش سطح سرمی گلوکز در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌گردد [۲۲]. هایپرگلیسمی مزمن در

انسولین سبب کاهش سطح سرمی گلوکز و در نتیجه سبب بهبود عوارض ناشی از هایپرگلیسمی می‌گردد، البته مطالعات بیشتری نیاز است تا همه مکانیسم‌های احتمالی درگیر در اثر بخشی عصاره این گیاه در بهبود دیابت مشخص گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید باهنر کرمان که بخشی از هزینه‌های این مطالعه را تامین نمود هم‌چنین از دکتر سید منصور میرتاج‌الدینی متخصص گیاه‌شناسی گروه زیست‌شناسی قدردانی می‌شود.

منابع

- [1] Kannel WB, Gee DL. Diabetes and cardiovascular risk factors: The framingham study. *Circ J* 1979; 241: 20-35.
- [2] Scoppola A, Montecchi FR, Mezinger G, Lala A. Urinary mevalonate excretion rate in type 2 diabetes, role of metabolic control. *Atherosclerosis* 2001; 156: 357-361.
- [3] Cho WC, Chung WS, Lee SK, Leung AW, Cheng CH, Yue KK. Ginsenoside Re of Panax ginseng possesses significant antioxidant and antihyperlipidemic efficacies in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 550: 173-179.
- [4] Attele AS, Zhou YP, Xie JT, Wu JA, Zhang L, Dey L, et al. Antidiabetic Effects of Panax ginseng Berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* 2002; 51: 1851-1858.
- [5] Ball AJ, Flatt PR, Clenaghan NH. Desensitization of sulphonylurea-and nutrient induced insulin secretion following prolonged treatment with glibenclamid. *Eur J Pharmacol* 2000; 408: 327-333.
- [6] Eidi A, Eidi M, Esmaili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13: 624-629.
- [7] Ugochukwu NH, Babady NE, Cobourne M, Gasset SR. The effect of *Gongronema latifolium* extracts on serum lipid profile and oxidative stress in hepatocytes of diabetic rats. *J Biosci* 2003; 28: 1-5.
- [8] Pushparaj P, Tan CH, Tan BK. Effect of *averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 72: 69-76.
- [9] Alarcon-Aguilara FJ, Roman-Ramos R, Perez-Gutierrez S, Aguilar-Contreras A, Contreras-Weber CC, Flores-Saenz JL. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *J Ethnopharmacol* 1998; 61: 101-110.
- [10] Li XM. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. *Int J Biol Macromol* 2007; 40: 461-465.
- [11] Mozafarriyan V. Dictionary of the names of Iranian plants, Farhange moaser publisher, Tehran, 1998. (Persian).
- [12] Zargari A. Medicinal plants. 2nd edition. Tehran University Publisher, Tehran, 1989. (Persian).
- [13] Hajhashemi V, Rabbani M, Asghari GR, Karami-Sarvi Z. Effects of *Otostegia persica* (Burm) boiss on morphine withdrawal syndrome in mice. *Iran J Pharma Res* 2004; 3: 30-35. (Persian).
- [14] Le K, Chiu F, Ng K. Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem* 2007; 105: 353-63.
- [15] Sharififar F, Yassa N, Shafiee A. Antioxidant activity of *otostegia persica* (Labiatae) and its constituents. *Iran J Pharm Res* 2003; 2: 235-239. (Persian).
- [16] Ghys T, Goedhuys W, Spincemaille K, Gorus F, Gerlo E. Plasma equivalent glucose at the point of care: evaluation of roche

نیز برخوردار است [۲۸]. گزارش شده است که میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه بیش‌تر از *Ginkgo biloba* و تقریباً مساوی با چای سبز است [۱۰]. فلاونوئیدها از چند طریق عمل آنتی‌اکسیدانی خود را انجام می‌دهند، مثلاً ترکیب با رادیکال‌های آزاد و تولید محصولات با فعالیت کم‌تر، مهار آنزیم‌های متابولیکی بدن مثل لیپواکسیژناز، سیکلو‌اکسیژناز، گزانتین‌اکسیداز و نیتریک‌اکسید سنتاز که در تولید رادیکال‌های آزاد دخیل هستند [۱۴]. ضمناً مشخص شده که فلاونوئیدهای *Quercetin*, *Morin*, *Rutin* و *Catchin* با اکسیداسیون کلسترول مخالف می‌کنند [۲۹]. مشتقات مونوترپنی در گل‌های *O.persica* ترکیبات مهمی هستند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند [۱۵] و توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را دارند [۱۰]. مشاهده و مقایسه برش‌های قطعات پانکراس در گروه شاهد با گروه‌های تیمار با عصاره نشان داد که تجویز عصاره از طریق کاهش ادم، آتروفی و بهبود پوشش مجاری در بهبود وضعیت آسینی‌های پانکراس موش‌های دیابتی مؤثر می‌باشد. قبلاً گزارش شده است، نمک‌های وانادیوم نیز در بهبود پوشش مجاری مؤثر می‌باشند [۱۸]. با توجه به کاهش آتروفی و واکوئول شدن و افزایش تعداد و اندازه جزایر در مشاهدات میکروسکوپی برش‌های بافتی، می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه ممکن است مانند نمک‌های وانادیوم تکثیر و حفاظت سلول‌های بتا را افزایش داده و در نتیجه مانند 1-Ephedrine حاصل از گیاه *Ephedrae* سبب افزایش ترشح انسولین گردد و از این طریق در بهبود سطح سرمی گلوکز خون مفید باشد [۲۰]. از سوی دیگر، اثر آنتی‌دیابتی یک‌سری از گیاهان به خاطر وجود ترکیباتی است که توانایی مهار آنزیم‌های گوارشی مثل α گلوکوزیداز روده‌ای را دارند و از این طریق سبب کاهش جذب کربوهیدرات‌ها از روده می‌شوند، اما بررسی‌های انجام شده بر روی این گیاه توسط سایر محققین نشان داد که این گیاه توانایی اندکی در مهار این آنزیم دارد (کم‌تر از ۲۵٪) [۳۰]. به‌طور کلی این گیاه احتمالاً با کاهش رادیکال‌های آزاد و بهبود جزایر پانکراس و افزایش

- [23] Kanakis CD, Nafisi SH, Rajabi M, Shadaloi A, Tarantilis PA, et al. Structural analysis of DNA and RNA interactions with antioxidant flavonoids. *Spectrosc Int J* 2009; 23: 29-43.
- [24] Zhang YM. Protective effect of quercetin on Aroclor 1254-induced oxidative damage in cultured chicken spermatogonial cells. *Toxicol Sci* 2005; 88: 545-550.
- [25] Hertog MG, Hollman PC. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 63-71.
- [26] Kato A, Minoshima Y, Yamamoto J, Adachi I, Watson AA, Nash RJ. Protective effects of dietary chamomile tea on diabetic complications. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 8206-8211.
- [27] Tanaka T, Kawabata K, Kakumoto M, Makita H, Ushida J, Honjo S, et al. Modifying effects of a flavonoid morin on azoxymethane-induced large bowel tumorigenesis in rats. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1477-1484.
- [28] Mc Dougall GJ, Kulkarni NN, Stewart D. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chem* 2009; 115: 193-199.
- [29] Valenzuela A, Sanhueza J, Nieto S. Cholesterol oxidation: Health hazard and the role of antioxidants in prevention. *Biol Res* 2003; 36: 291-302.
- [30] Gholamhoseinian A, Fallah H, Shariffar F, Mirtajaddini M. The inhibitory effect of some Iranian plants extracts on the alpha glucosidase. *Iran J Basic Med Sci* 2008; 11: 1-9.(Persian).
- Accu-Chek inform and abbot precision PCx® glucose meters. *Clin Chim Acta* 2007; 386: 63-68.
- [17] Kley S, Caffall Z, Tittle E, Ferguson DC, Hoenig M. Development of a feline proinsulin immunoradiometric assay and a feline proinsulin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): A novel application to examine beta cell function in cats. *Domest Anim Endocrinol* 2008; 34: 311-318.
- [18] Soudamani S, Yuvaraj S, Malini T, Balasubramanian K. Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2005; 287: 1281-1289.
- [19] Ahmadi S, Karimian SM, Sotoudeh M, Bahadori M. Histological and immunohistochemical study of pancreatic islet beta cells of diabetic rats treated with oral vanadyl sulphate. *Med J Islamic Repub Iran* 2002; 16: 173-178. (Persian).
- [20] Xiu LM, Miura AB, Yamamoto K, Kobayashi T, Song QH, Kitamura H, Cyong JC. Pancreatic islet regeneration by Ephedrine in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Am J Chin Med* 2001; 29: 493-500.
- [21] Anwar MM, Meki AR. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2003; 135: 539-547.
- [22] Ebrahimpoor MR, Khaksar Z, Noorafshan A. Antidiabetic effect of *Otostegia persica* oral extract on streptozotocin-diabetic rats. *Res J Biol Sci* 2009; 4: 1227-1229.(Persian).

Effects of *Otostegia persica* extract on serum level of glucose and morphology of pancreas in diabetic rats

Mahdiye Hedayati (M.Sc)¹, Iran Pouraboli (Ph.D)^{*2}, Batoool Pouraboli (M.Sc)³, Shahriar Dabiri (M.D)⁴, Abdoreza Javadi (M.D)⁵

1 - Dept. of Biology, School of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2 - Dept. of Biology, Cell and Endocrine Research Center, School of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3 - School of Nursing, Medical Sciences University of Kerman, Kerman, Iran

4 - Dept. of Pathology, Research Center of Physiology, Medical Sciences University of Kerman, Kerman, Iran

5 - Dept. of Pathology, Medical Sciences University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: 16 Oct 2010 Accepted: 26 Jun 2011)

Introduction: With respect to antioxidant effect of *Otostegia persica* (*O. persica*) extract and the role of antioxidant agents in diabetes improvement, the aim of this study was to investigate the effect of methanolic extract of *O. persica* on serum level of glucose and morphology of pancreas in type I diabetic male rats.

Materials and Methods: Type I diabetes was induced in male wistar rats (200-250 g) by injection of 65 mg/kg, i.p of streptozotocin. Before this and 5 days post-injection fasting blood samples were collected. Diabetes was confirmed in rats having fasting blood glucose level above 250 mg/dL. Diabetic rats were divided into 5 groups which received 100, 200 and 300 mg/kg/day *O.persica* extract, glibenclamide (600µg/kg) and distilled water (0.5 mL) for 14 days individually by gavage, respectively. After 14 days, fasting blood samples were collected and serum levels of glucose and insulin were measured using commercial kits by spectrophotometry and ELISA, respectively. Rats' pancreases dissected out and used for histological studies after fixation, tissue preparation process and staining with hematoxylin-eosin dyes.

Results: The oral administration of *O. persica* extract in diabetic rats for 14 days significantly decreased glucose serum level, but it only at dose of 100 mg/kg significantly increased insulin serum level ($p<0.05$). Furthermore, extract improved pancreas tissue as in all doses it increased number of islets and at doses of 200 and 300 mg/kg increased the mean diameter of islets ($p<0.05$).

Conclusion: Our study demonstrates that *O. persica* extract has a hypoglycemic effect by improving pancreas islets and increasing insulin secretion.

Key words: Diabetes mellitus, *Otostegia persica*, Glucose, Pancreas, Insulin

* Corresponding author: Fax: +98 341 3222032 ; Tel: +98 341 3222032
Pourabolii@yahoo.com