

# اثر عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در موش‌های سفید بزرگ آزمایش گاهی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

حمیدرضا ثامن<sup>۱\*</sup> (Ph.D)، پریسا رامهرمزی<sup>۱</sup> (M.Sc)، احمدرضا بندگی<sup>۲</sup> (Ph.D)، عباسعلی طاهریان<sup>۳</sup> (M.D)، منوچهر صفری<sup>۱</sup> (Ph.D)، محمدحسن تبریزی امجد<sup>۱</sup> (M.Sc)

- ۱- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریح
- ۲- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه بیوشیمی
- ۳- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه علوم تشریح

## چکیده

سابقه و هدف: دیابت، شایع‌ترین بیماری آندوکراین است که در آن بسیاری از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم از جمله قند و لیپیدها تغییر می‌کنند. پروپولیس به‌عنوان یکی از محصولات طبیعی زنبور عسل دارای خواص زیستی متنوع و بسیار مفیدی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر میزان گلوکز، نمایه لیپیدی، کراتینین و BUN سرم خون در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار با وزن تقریبی  $20 \pm 20$  گرم به‌طور تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی، شامل گروه‌های: کنترل، دیابتی، دیابتی دارونما و دو گروه دیابتی درمان با عصاره پروپولیس توزیع گردیدند. دیابت با یک بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین ( $60 \text{ mg/kg}$ ) ایجاد گردید. به گروه‌های تیمار، عصاره با دوز  $100 \text{ mg/kg}$  و  $200$  روزانه و به مدت ۶ هفته گاوژ گردید. در پایان، وزن بدن و کلیه حیوان، سطوح سرمی گلوکز، BUN، کراتینین، HDL-c، LDL-c، TG و کلسترول توتال موش‌ها اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: عصاره هیدروالکلی پروپولیس به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن بدن و کاهش وزن کلیه در موش‌های دیابتی تیمار شده با عصاره گردید. همچنین پروپولیس به‌طور معنی‌داری باعث مهار افزایش سطح گلوکز، کلسترول، کراتینین، HDL-c، TG، BUN و افزایش سطح HDL-c در موش‌های دیابتی تحت درمان در مقایسه با حیوانات دیابتی بدون درمان شد. نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست آمده نشان داد که عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی دارای اثر کنترلی بر قند و تعدیل‌کنندگی بر تعدادی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون در حیوانات دیابتی بوده و احتمالاً در درمان و پیش‌گیری از دیابت موثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، پروپولیس، استرپتوزوتوسین، قند خون، نمایه لیپیدی

## مقدمه

جمع‌آوری، به آن ترشحاتی اضافه نموده و پس از عمل‌آوری نهایی از آن برای مقاصد مختلف از جمله؛ پوشش دیواره داخلی کندانسورها، اندود کردن درزها و شکاف ورودی کندانسورها،

پروپولیس (بره موم) یک محصول طبیعی مشتق از رزین (صمغ) گیاهان مختلف بوده که زنبورهای عسل پس از

به دنبال آن مسیرهای پاتوژنیکی مثل: قنددار شدن پروتئین‌ها، فعال شدن مسیر پلی‌ال (polyol pathway)، فعالیت پروتئین کیناز C، مسیر هگزوز آمین، مسیرهای همودینامیک، فعالیت سیتوکین‌ها، افزایش بیان ژن TGF- $\beta$  و ... فعال شده و منجر به ایجاد عوارض مختلفی می‌شوند [۱۱-۱۴]. با توجه به عوارض متعدد و خطرناکی که افزایش قند در بیماران دیابتی ایجاد می‌نماید بررسی روش‌های درمان، تخفیف و پیش‌گیری از آن لازم و حیاتی است. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در کاهش سطح رادیکال‌های آزاد و به تاخیر انداختن و یا حتی پیش‌گیری از آسیب‌های ناشی از دیابت دارند [۱۵]. Shakespeare در سال ۲۰۱۲ در یک مطالعه‌ی مروری نشان داد که پروپولیس‌های تهیه شده از گیاهان مختلف از نظر ترکیبات موثره و حتی میزان حلالیت دارای تفاوت زیادی هستند [۱۶]. هم‌چنین مطالعات محمدزاده و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که حتی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروپولیس ایرانی از مناطق مختلف جغرافیایی به دلیل تفاوت در میزان ترکیبات پلی‌فنلی با هم متفاوت می‌باشند. بنابراین، ترکیبات پروپولیس به مقدار زیادی تحت تاثیر منطقه جغرافیایی، محیط زیست، نوع پوشش گیاهی و ... قرار دارد. با توجه به چهار فصل بودن کشور، تفاوت در محیط زیست و پوشش‌های گیاهی و حتی تفاوت در گونه‌های زنبور عسل نسبت به کشورهای دیگر، می‌توان گفت که به احتمال زیاد پروپولیس ایرانی دارای ترکیبات موثره و اثرات مفید متفاوتی نسبت به نمونه‌های دیگر کشورها می‌باشد [۱۶، ۱]. به همین منظور با توجه به این‌که در مورد اثرات پروپولیس ایرانی بر عوارض ناشی از دیابت از جمله تغییر در فاکتورهای بیوشیمیایی مختلف سرم خون گزارشی ارائه نشده است، در این مطالعه ما بر آن شدیم تا از عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی جهت بررسی اثرات حفاظتی احتمالی آن بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در مدل آزمایش‌گاهی دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین استفاده کنیم.

پوشاندن سطح بدن حیوانات نفوذی به کندو و محافظت از خود استفاده می‌کنند. بیش از ۳۰۰ ترکیب مختلف نظیر پلی‌فنل‌ها (فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی)، استرها، کافئولنیک اسید، مونوترین‌ها، آمینواسیدها، استروئیدها، اسید کافئیک، روغن‌های ضروری، ترکیبات غیرآلی و ... در پروپولیس یافت شده است [۱-۴]. پروپولیس از زمان‌های بسیار دور به عنوان یک داروی سنتی در درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده شده است و دارای فعالیت بیولوژیک متنوع بوده که مهم‌ترین آن‌ها؛ خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد پاتوژنی، آنتی‌توموری، تنظیم‌کننده ایمنی، حفاظت کبدی و ... می‌باشد [۵، ۶، ۷]. در بعضی از کشورها از جمله چین، پروپولیس به‌عنوان یک داروی جدید و مجاز شناخته شده و در داروخانه‌ها عرضه می‌گردد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که پروپولیس چینی به کاهش قند خون و بهبود شرایط استرس اکسیداتیو و متابولیسم لیپیدها در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان کمک می‌کند [۷]. به‌علاوه کاربردهای بالینی نشان داده‌اند که پروپولیس برای کنترل قند خون مفید است [۸]. بنابراین پروپولیس مطالعه نظام‌مند به منظور بررسی اثرات ضد دیابتی پروپولیس و شناخت مکانیسم عمل‌کرد آن لازم و ضروری است.

افزایش درازمدت (مزمن) گلوکز در بیماری دیابت، علت اصلی اختلالات آنژیوپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی، نفروپاتی، بیماری قلبی، سکته، ضعف سیستم آنتی‌اکسیدانی، اختلال در متابولیسم لیپیدها و ... می‌باشد [۹، ۱۰]. بنابراین، دیابت قندی می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامت عمومی و افزایش بار اقتصادی در جهان باشد. با توجه به هزینه‌های هنگفت و سرسام‌آور پزشکی و پاتوبیولوژی بسیار پیچیده دیابت، امروزه بیش‌تر تحقیقات بر طب گیاهی و سنتی متمرکز شده‌اند که دارای عوارض و هزینه‌های کم‌تری بوده و ممکن است در بهبود کنترل قند خون و پایین آوردن خطر ابتلا به عوارض ناشی از دیابت مؤثر و مفید واقع شوند. مهم‌ترین مکانیسم آسیب‌زایی در دیابت این است که ازدیاد قند خون از طریق فعال کردن مسیرهای میتوکندریایی، زانتین اکسیداز و NAD(P)H اکسیداز باعث افزایش استرس اکسیداتیو شده و

## مواد و روش‌ها

اینمشکل، محلول گلوکز ۱۰٪ به میزان ۱ میلی‌لیتر به حیوانخورانده شد.

۳- جهت جلوگیری از دهیدراته شدن حیوانات دیابتی، محلول ۰/۰۴۵٪ آب نمک تهیه و در طول دوره مطالعه (به‌ویژه دو هفته اول) به جای آب در اختیار آن‌ها گذاشته شد [۲۰].

با رعایت نکات فوق میزان مرگ و میر حیوانات بسیار کاهش یافته و در گروه دیابتی بدون درمان به ۲۰-۱۵٪ و در گروه‌های دیابتی تحت درمان با عصاره پروپولیس به ۱۰٪ کاهش یافت.

تهیه عصاره هیدروالکلی پروپولیس. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی پروپولیس، بره موم مورد استفاده از کندوهای زنبور عسل واقع در نواحی شمالی استان سمنان جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی منتقل و تا زمان عصاره‌گیری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در این بررسی تهیه عصاره هیدروالکلی پروپولیس مطابق روش بوسیو و همکاران انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا قطعات بزرگ بره موم به قطعات ریز خرد شده، سپس ۲۵ گرم از آن با ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول اتانل ۸۰٪ مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق با استفاده از دستگاه شیکر مسطح در سطح افق تکان داده شد (۱۵۰ دور در دقیقه). سپس عصاره هیدروالکلی حاصل توسط کاغذ صافی نمره ۴۲ واتمن دو بار صاف شده و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۱].

گروه‌های مورد مطالعه. در این تحقیق موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. (۱) گروه کنترل، (۲) گروه دیابتی شده بدون دریافت حلال پروپولیس، (۳) گروه دیابتی دارونما: دریافت‌کننده حلال پروپولیس، (۴) گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره پروپولیس با دوز ۵،۱۰۰ mg/kg (گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره پروپولیس با دوز ۲۰۰ mg/kg). موش‌های گروه‌های ۴ و ۵ به مدت ۴۰ روز، روزانه عصاره هیدروالکلی پروپولیس از طریق گاواژ دریافت کردند. هم‌زمان

حیوانات. برای انجام این مطالعه، تعداد ۴۰ سر موش سفید بزرگ آزمایش‌گاهی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی  $20 \pm 20$  گرم از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی ایران خریداری شد. موش‌ها به مدت یک هفته در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۴۵-۵۵٪ و در دمای بین ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی سمنان نگهداری شدند. بعد از سپری شدن دوره سازش‌پذیری با شرایط حیوان‌خانه، موش‌های هر گروه توزین و نشانه‌گذاری شدند. تمام مراحل کار با حیوانات بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق و حمایت از حیوانات آزمایش‌گاهی انجام شد.

روش دیابتی کردن حیوانات. جهت القاء دیابت در موش‌ها از محلول تازه تهیه شده استریتوزوتوسین (تولید شرکت Sigma آمریکا) استفاده شد. این ماده به مقدار ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان به صورت محلول در بافر سیترات سدیم (۰/۰۱ M و pH: ۴/۶) بعد از ۱۲ ساعت پرهیز غذایی، به صورت تزریق تک‌دوز و داخل صفاقی به هر حیوان تزریق شد [۱۷]. ۴۸ ساعت پس از تزریق استریتوزوتوسین، نمونه خون از ورید مارژینال دمی گرفته شد و فقط حیواناتی با سطح گلوکز خون  $200 \text{ mg/dl}$  یا بالاتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۱۹، ۱۸، ۱]. جهت اندازه‌گیری قند خون از کیت شرکت ARKRAY ژاپن استفاده گردید.

نگهداری حیوانات دیابتی. به منظور جلوگیری و کاهش مرگ و میر احتمالی حیوانات تدابیر حفاظتی زیر انجام شد:

۱- با توجه به حجم بالای ادرار تولید شده در حیوانات دیابتی، در هر قفس دو حیوان نگهداری شد و بستر آن‌ها روزانه تعویض گردید. جنس بستر آن‌ها نیز از خاک اره و پوشال کاغذی بود.

۲- در آغاز روز دوم پس از تزریق STZ، باید توجه ویژه‌ای به حیوانات نمود زیرا در اثر تخریب سلول‌های بنای جزایر لانگرهانس، مقدار زیادی انسولین آزاد شده و باعث ایجاد شوک هیپوگلیسمی می‌شود. جهت رفع

گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی پروپولیس، مشاهده شد (جدول ۱،  $p < 0.05$ ).

وزن کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با دو گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی پروپولیس افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۱،  $p < 0.05$ ). هم‌چنین نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه‌های دیابتی افزایش ولی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره کاهش نشان داد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ) (جدول ۱).

سطح گلوکز سرم در موش‌های صحرایی دیابتی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل بود ( $p < 0.001$ ) (جدول ۲). در صورتی‌که در گروه‌های دیابتی تحت درمان با عصاره هیدروالکلی پروپولیس، سطح گلوکز سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.001$ ). در مقایسه بین دو گروه دیابتی تحت درمان با عصاره، سطح گلوکز سرم تغییر معنی‌داری را نشان نداد.

مقایسه سطح تری‌گلیسرید سرم در گروه‌های مختلف نشان داد که مقدار آن در گروه‌های دیابتی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0.001$ ). همان‌طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، عصاره هیدروالکلی پروپولیس سطح تری‌گلیسرید سرم را در دو گروه درمانی کاهش معنی‌داری داده است. مقایسه دو گروه دیابتی تحت درمان با عصاره حاکی از کاهش معنی‌داری سطح تری‌گلیسرید سرم در گروه پروپولیس ۲۰۰ نسبت به پروپولیس ۱۰۰ می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

آنالیز آماری نتایج کلسترول تام سرم در گروه‌های مختلف نشان داد که سطح سرمی کلسترول در گروه‌های دیابتی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل است. جدول ۲، گویای این واقعیت است که عصاره هیدروالکلی پروپولیس، کلسترول را در دو گروه درمانی نسبت به گروه دیابتی کاهش داده است ( $p < 0.001$ ). هم‌چنین میزان سرمی کلسترول در گروه پنجم کم‌تر از گروه چهارم می‌باشد. که نشان می‌دهد عصاره با دوز ۲۰۰ توانسته به میزان بیش‌تری سطح کلسترول سرم را کاهش دهد ( $p < 0.001$ ).

به موش‌های گروه ۳ نیز حلال عصاره با حجمی برابر، گاوآذ گردید. شرایط نگهداری در سایر موارد برای تمامی گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد [۲۳، ۲۲].

تهیه نمونه. موش‌ها در تمام گروه‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق وزن شدند و سپس با استفاده از کتامین/زایلازین با دوز  $20/75 \text{ mg/kg}$  به صورت داخل صفاقی تحت بی‌هوشی قرار گرفتند. نمونه خون از قلب حیوان تهیه گردید. در طی این خون‌گیری حیوان دچار مرگ آسان شد. سپس نمونه‌ها جهت انعقاد به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در دمای آزمایش‌گاه قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفوژ با دور  $5000 \text{ g}$  و در دمای  $22$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سرم پس از جداسازی در میکروتیوب‌های مناسب جمع‌آوری شد و به منظور سنجش تعدادی از فاکتورهای بیوشیمیایی در فریزر  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. از سرم حاصل برای اندازه‌گیری میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، BUN، HDL-c، LDL-c به وسیله کیت‌های آنزیمی (شرکت پارس آزمون) استفاده شد. هم‌چنین پس از خون‌گیری، کلیه‌ها از بدن حیوان خارج شده و توسط سرم فیزیولوژی شسته شدند و پس از جدا کردن بافت‌های چربی اطراف آن، توسط ترازوی دیجیتال توزین شدند.

محاسبات آماری. در این تحقیق تمامی داده‌ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{S.D}$  ارائه شده‌اند. داده‌های حاصل در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی Tukey در نرم‌افزار SPSS Version 20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها با سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

تجزیه و تحلیل وزن موش‌های صحرایی مورد بررسی در طی یک مطالعه ۴۰ روزه نشان داد که وزن بدن حیوانات دیابتی به طور معنی‌داری کم‌تر از گروه کنترل بوده و افزایش وزن در دو

در موش‌های دیابتی سطح سرمی BUN در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته و در موش‌های گروه‌های تحت درمان با عصاره این سطوح سرمی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی کاهش یافته بود ( $p < 0/001$ ). تفاوت مقدار سطح سرمی BUN در دو گروه دیابتی درمان با عصاره از نظر عددی تفاوت دارد اما این تفاوت معنی‌دار نیست گرچه از نظر آماری قابل ملاحظه است ( $p = 0/09$ ).

در موش‌های گروه‌های دیابتی و دارونما سطح سرمی کراتینین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲). عصاره هیدروالکلی پروپولیس سطح سرمی کراتینین را در هر دو گروه درمانی کاهش داده ولی فقط در گروه درمانی پروپولیس ۲۰۰ این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ ).

آنالیز آماری نتایج LDL-C سرم در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه دیابتی بدون درمان به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0/001$ ). جدول ۲، گویای این واقعیت است که سطح LDL-C در دو گروه دریافت‌کننده عصاره کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشته است ( $p < 0/05$ ). همچنین مقایسه میزان سرمی LDL-C در گروه‌های چهارم و پنجم نشان می‌دهد که عصاره با دوز ۲۰۰ توانسته به میزان بیش‌تری LDL-C را کاهش دهد ( $p < 0/05$ ). سطح سرمی HDL-C در گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. جدول ۲ نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی پروپولیس، سطح HDL-C سرم را در مقایسه با گروه دیابتی به طور معنی‌داری افزایش داده است. اختلاف میانگین در دو گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره و شاهد از نظر آماری معنی‌دار است ( $p < 0/05$ ).

جدول ۱. اثر عصاره هیدروالکلی پروپولیس بر وزن بدن حیوان، وزن کلیه و نسبت وزنی کلیه به حیوان در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استریتوزتوسین

گروه‌ها (n=8)	وزن بدن در شروع مطالعه (گرم)	وزن بدن در پایان مطالعه (گرم)	وزن کلیه (گرم)	نسبت وزن کلیه به حیوان (گرم)
کنترل	217/20 ± 2/2	367/60 ± 9/5	0/82 ± 0/04	0/0022 ± 0/0001
دیابتی بدون درمان	218/75 ± 3/3	260/75 ± 17/9 *	1/07 ± 0/09 *	0/0041 ± 0/0004 *
دیابتی و هیکل	219/25 ± 1/7	266/75 ± 8/4 *	1/02 ± 0/05 *	0/0038 ± 0/0001 *
پروپولیس 100 mg/kg	219/60 ± 2/4	313 ± 13/8 #	0/94 ± 0/11	0/0029 ± 0/0004 #
پروپولیس 200 mg/kg	220 ± 1/7	330/17 ± 16/1 #	0/91 ± 0/07 #	0/0027 ± 0/0002 #

\$: اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه کنترل. #: اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  بین گروه‌های دیابتی با گروه کنترل. # اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه دیابتی

جدول ۲. اثر عصاره هیدروالکلی پروپولیس بر گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL-C، HDL-C، BUN و کراتینین سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استریتوزتوسین

گروه‌ها	میانگین ± انحراف معیار (n=8)				
متغیرها	کنترل	دیابتی	دیابتی‌دارونما	پروپولیس 100 mg/kg	پروپولیس 200 mg/kg
گلوکز (mg/dl)	96/7 ± 6/62	546 ± 49/38 *	522 ± 51/07 *	297/4 ± 68/34 #	246/1 ± 47/22 #
کلسترول (mg/dl)	71/2 ± 2/31	106/4 ± 2/16 *	106/7 ± 2/80 *	100 ± 3/05 #	92 ± 4/28 #
تری‌گلیسرید (mg/dl)	88/3 ± 2/67	129/8 ± 2/85 *	129 ± 2/60 *	122/8 ± 3/02 #	116/7 ± 4/60 #
LDL (mg/dl)	37/3 ± 2/06	65/5 ± 2/38 *	66/6 ± 2/70 *	60/2 ± 3/59 #	53/5 ± 3/86 #
HDL (mg/dl)	16/1 ± 0/55	14/1 ± 1/15 *	14/1 ± 1/06 *	15/2 ± 0/25 #	15/7 ± 0/25 #
BUN (mg/dl)	16/7 ± 2/02	24/2 ± 1/96 *	24/3 ± 1/17 *	18/5 ± 3/01 #	17/7 ± 2/80 #
کراتینین (mg/dl)	22/9 ± 0/62	26/6 ± 0/63 *	26/4 ± 0/85 *	25/3 ± 1/1	23/9 ± 1/52 #

\*: اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  بین گروه‌های دیابتی با گروه کنترل. #: اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه کنترل. \$: اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه کنترل

## بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص شد که عصاره هیدروالکلی پروپولیس با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، باعث کاهش قند خون، تری گلیسرید، کلسترول تام، LDL-C، BUN و کراتینین و افزایش HDL-C در حیوانات دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می شود. در این تحقیق افزایش گلوکز پلاسما با تخریب سلول های بتای جزایر لانگرهانس توسط STZ انجام شد و کاهش قند خون توسط عصاره هیدروالکلی پروپولیس در این تحقیق مشابه با یافته های Fulianga و همکاران در سال ۲۰۰۵ می باشد [۲۴].

هایپرگلیسمی به عنوان یکی از علل اصلی ایجاد عوارض در بیماران دیابتی می باشد و کنترل قند خون باعث کاهش بروز این عوارض می گردد [۲۵]. یکی از اثرات عصاره مذکور احتمالاً از طریق مهار ساخت IL-1 $\beta$  و NO سنتتاز و در نتیجه جلوگیری از تخریب سلول های  $\beta$  پانکراس می باشد. از طرف دیگر، اثرات هیپوگلیسمی عصاره پروپولیس احتمالاً ناشی از کاهش مقاومت سلول ها به انسولین، تحریک بافت های محیطی در جذب گلوکز و همزمان کاهش یا مهار جذب روده ای گلوکز می باشد [۲۶]. در عین حال بخشی از اثرات هیپوگلیسمیک عصاره پروپولیس را می توان به وجود ترکیبات فلاونوئیدی، آلکالوئیدی، ترپنوئیدی و گلیکوزیدی موجود در آن نسبت داد. زیرا مطالعات قبلی نشان داده اند که فلاونوئیدها با اثرات آنتی اکسیدانی خود و همچنین ترکیبات گلیکوزیدی قادر به کاهش قند خون می باشند [۲۸، ۲۷].

متعاقب افزایش قند خون در موش های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، میزان تری گلیسرید نیز افزایش یافته در مطالعه ما که مشابه با یافته های Rama Srivatsa و همکاران بود عصاره هیدروالکلی پروپولیس باعث کاهش تری گلیسرید گردید [۱۵]. کاهش حساسیت انسولین و فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز (LPL) باعث کاهش برداشت لیپوپروتئین ها از خون می شود که یکی از علت های اصلی افزایش تری گلیسرید در بیماران دیابتی می باشد [۲۹]. نتایج ما نشان داد که عصاره هیدروالکلی پروپولیس باعث کاهش

میزان تری گلیسرید در موش های صحرایی دیابتی می شود که این اثر عصاره احتمالاً از طریق افزایش حساسیت سلول ها به انسولین و فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز صورت می گیرد.

در مطالعه ما نیز کاهش HDL-C و افزایش LDL-C در گروه دیابتی بدون درمان مشاهده شد و پس از تجویز هر دو دوز عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی افزایش سطح سرمی HDL-C و کاهش LDL-C اتفاق افتاد که مطابق با یافته های Osama و همکاران در سال ۲۰۰۹ بود [۳۰]. با توجه به این که غلظت HDL-C پلاسما با تری گلیسرید رابطه عکس دارد و با در نظر گرفتن این که پروپولیس توانست میزان تری گلیسرید را کاهش دهد، لذا باید انتظار داشت که با کاهش میزان تری گلیسرید، HDL-C افزایش یابد. در ضمن از آنجائی که عصاره باعث بهبود مسیر متابولیسم گلوکز می شود متابولیسم پروتئین ها را در مسیرهای آنابولیک تقویت می کنند که در نتیجه آن، سنتز پروتئین های نظیر Apo-A1 که ۷۰٪ ساختمان های HDL-C را می سازند افزایش می یابد. که به نوبه خود منجر به افزایش HDL-C می گردد [۳۱].

افزایش غلظت پلاسمایی کلسترول تام به دنبال تزریق استرپتوزوتوسین مطابق با نتایج حاصل از مطالعه Felix و همکاران بود [۳۲]. تزریق عصاره پروپولیس ایرانی سطح کلسترول را کاهش داد که این نتیجه مطابق یافته های Fuliang و همکاران می باشد [۲۴].

در بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی مدل های حیوانی، به دنبال دیابت، افزایش وزن کلیه گزارش گردیده است. البته لازم به ذکر است که وزن کلیه در مراحل اولیه، افزایش و در مراحل نهایی تر نفروپاتی، کاهش نشان می دهد [۳۳]. بعد از طبیعی شدن قند خون، وزن کلیه کاهش می یابد [۳۴]. در مطالعه ما نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه دیابتی و گروه درمانی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت که دلیل بر بزرگ شدن کلیه است. از آنجا که در مطالعه حاضر پروپولیس توانست قند خون را تعدیل نماید، افزایش وزن کلیه ناشی از دیابت در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتی کاهش پیدا کرد. نتایج ما هم راستا با نتایج Yajing Li و

بررسی در این مطالعه) توسط عصاره پروپولیس مشخص نشده است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که چندین مکانیسم احتمالی از جمله: تشکیل پروتئین‌های قنددار شده و قنددار شدن پیش‌رفته محصولات نهایی، فعالیت پروتئین کیناز C، فعال شدن مسیر پلی‌ال (polyol pathway) و افزایش مسیر هگزوز آمین سبب ایجاد چنین اختلالات متنوع سلولی، عضوی و پارامترهای خونی در بیماران دیابتی می‌شود [۴۱،۴۰]. بیماران دیابتی دارای درجات مختلفی از دیس‌لیپیدی می‌باشند که با افزایش سطوح سرمی تری‌گلیسرید و کلسترول و کاهش سطح HDL-C مشخص می‌شوند. هایپرلیپیدی منجر به آترواسکلروز و بیماری‌های مزمن قلبی - عروقی (CVD) می‌گردد. کاهش سطوح سرمی کلسترول و تری‌گلیسرید با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن قلبی - عروقی همراه می‌باشد که این عمل ظاهراً توسط عصاره هیدروآلکلی پروپولیس اتفاق افتاده است [۴۲،۴۱].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هیدروآلکلی پروپولیس ایرانی دارای اثر کنترلی بر قند و لیپیدهای خون در حیوانات دیابتی بوده و دوز بالاتر پروپولیس یعنی ۲۰۰ mg/kg موثرتر از دوز ۱۰۰ عمل کرده است. با توجه به این‌که افزایش قند و لیپیدهای خون به‌عنوان فاکتورهای خطرناک مهم در شروع و پیشرفت عوارض آترواسکلروز و به دنبال آن بیماری‌های قلبی - عروقی مطرح می‌باشند، لذا این یافته‌ها پیشنهاد می‌کنند که احتمالاً عصاره پروپولیس ایرانی می‌تواند در پیش‌گیری و کنترل عوارض ناشی از دیابت موثر باشد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان که با تامین اعتبار لازم، امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند و همچنین از سرکار خانم کوهساریان کارشناس محترم گروه بیوشیمی و سرکار خانم پهلوان کارشناس محترم بخش بافت‌شناسی به خاطر همکاری‌خالصانه، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله از پایان‌نامه

همکاران بود [۲۲]. هیپرگلیسمی در موش‌های دیابتی باعث افزایش ماتریکس خارج سلولی، فیبروز، ضخیم شدن غشاء پایه، اتساع فضای ادراری همراه با قطرات ریز هیالینی پروتئینی، هایپرسلولاریتی مزانزیال [۳۶،۳۵]، هایپرتروفی و هایپرپلازی لوله‌ای و فیبروز در مدولا و در نهایت منجر به افزایش وزن کلیه می‌شود [۳۴]. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که فلاونوئیدها موجب کاهش قند خون می‌شوند [۳۰]. یک مکانیسم احتمالی در رابطه با اثرات هیپوگلیسمیک و اثرات مفید عصاره هیدروآلکلی پروپولیس بر تغییرات بافتی کلیوی، می‌تواند ناشی از حضور آلکالوئیدها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره باشد.

یکی از عوارض میکرواسکولار در بیماران دیابتی، نفروپاتی دیابتی می‌باشد اندازه‌گیری میزان BUN و کراتینینیک مارکر مهم جهت بررسی میزان فیلتراسیون گلومرولی می‌باشند. در این مطالعه القاء دیابت باعث افزایش معنی‌دار مقادیر سرمی BUN و کراتینین در گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل شد که با یافته‌های Wei و همکاران مطابقت داشت [۷]. تجویز عصاره هیدروآلکلی پروپولیس باعث کاهش معنی‌دار فاکتورهای فوق در مقایسه با گروه دیابتی شد. این نتایج ثابت می‌کنند که پروپولیس بر روی عمل‌کرد کلیه در حیوانات دیابتی دارای اثر حفاظتی می‌باشد. این نتیجه‌گیری منطبق با چندین گزارش قبلی است که نشان داده‌اند پروپولیس و اجزاء فعال آن مثل کافئیک‌اسید فنیل‌استر (CAPE) دارای اثرات درمانی بر روی آسیب‌های کلیوی و کبدی در مدل‌های حیوانی می‌باشند [۳۷،۳۸]. احتمالاً پروپولیس به‌دلیل وجود ترکیباتی مثل CAPE، از طریق کاهش آپوپتوز پودوسیت‌ها، افزایش غلظت NO در گلومرول‌ها و جلوگیری از افزایش بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیالی (Vascular Endothelial Growth Factor) VEGF در پودوسیت‌ها منجر به بهبود عمل‌کرد کلیوی در موش‌های دیابتی شده توسط STZ می‌شود [۳۹].

با توجه به گزارشات قبلی هنوز مکانیسم دقیق تعدیل فاکتورهای بیوشیمیایی خون (از جمله فاکتورهای مورد

renal oxidative stress. African J Pharm Pharmacology 2010; 4: 712-720.

[22] Li Y, Chen M, Xuan H, Hu F. Effects of encapsulated propolis on blood glyceemic control, lipid metabolism, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats. Evid-Based Complement Altern Med 2012; 2012: 981896.

[23] Ghassemi L, Zabihi E, Mahdavi R, Seyedmajidi M, Akram S, Motallebnejad M. The effect of ethanolic extract of propolis on radiation-induced mucositis in rats. Saudi Med J 2010; 31: 622-626.

[24] Fuliang HU, Hepburn HR, Xuan H, Chen M, Daya S, Radloff SE. Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. Pharmacol Res 2005; 51: 147-152.

[25] [No authors listed]. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus," N Engl J Med 1993; 329: 977-986.

[26] Sforcin JM, Bankova V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? J Ethnopharmacol 2011; 133: 253-260.

[27] Lukačinová A, Mojiš J, Beňáčka R, Keller J, Maguth T, Kurila P, et al. Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Mellitus in Rats. Acta Vet Brno 2008; 77: 175-182.

[28] Vaya J, Aviram M. Nutritional antioxidants: mechanism of action, analyses of activities and medical applications. Curr Med Chem Immun End Metab Age 2001; 1: 99-117.

[29] Watson KE, Horowitz BN, Matson G. "Lipid abnormalities in insulin resistant states". Rev Cardiovasc Med 2003; 4: 228-236.

[30] Abo-Salem OM, El-Edel RH, Harisa GE, El-Halawany N, Ghonaim MM. Experimental diabetic nephropathy can be prevented by propolis: effect on metabolic disturbances and renal oxidative parameters. Pak J Pharm Sci 2009; 22: 205-210.

[31] Georg P, L.B. Lipids and diabetes. J clin Basic CXardio I, 2000; 3: 159-162.

[32] Felix O, P.B, Helen N, Errol Y.St.A. M. Increase plasma and liver lipids in streptozotocin-induced diabetic rats: Effects of yam (*Dioscorea Cayenensis*) or Dasheen (*colocassia Esculenta*) extract supplements. Diabetologia Croatica 2001; 7: 87-91.

[33] Tuttle KR, Bruton JL, Perusek MC, Lancaster JL, Kopp DT, DeFronzo RA. Effect of strict glyceemic control on renal hemodynamic response to amino acids and renal enlargement in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1991; 324: 1626-1632.

[34] Seyer-Hansen K, Hansen J, Gundersen HJ. Renal hypertrophy in experimental diabetes. A morphometric study. Diabetologia 1980; 18: 501-505.

[35] Kotajima N, Kimura T, Kanda T, Obata K, Kuwabara A, Fukumura Y, Kobayashi I. Type IV collagen as an early marker for diabetic nephropathy in noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Diabetes Complication 2000; 14: 13-17.

[36] Yamanea T, Yamaguchi N, Yoshida Y, Mitsumatac M. Regulation of extracellular matrix production and degradation of endothelial cells by shear stress. Intern Cong Series 2004; 1262: 407-410.

[37] Nirala SK, Bhadauria M. "Propolis reverses acetaminophen induced acute hepatorenal alterations: a biochemical and histopathological approach," Arch Pharm Res 2008; 31: 451-461.

[38] Ozen S, Akyol O, Iraz M, Söğüt S, Ozuğurlu F, Ozyurt H, et al. "Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats," J Appl Toxicol 2004; 24: 27-35.

[39] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. Diabetes 2005; 54: 1615-1625.

[40] Wolf G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. Kidney Int 1999; 56: 393-405.

[41] Molitch ME. Management of dyslipidemias in patients with diabetes and chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol 2006; 1: 1090-1099.

[42] Jain KS, Kathiravan MK, Somani RS, Shishoo CJ. The biology and chemistry of hyperlipidemia. Bioorg Med Chem 2007; 15: 4674-4699.

کارشناسی ارشد سرکار خانم پریسا رامهرمزی استخراج شده است.

## منابع

[1] MohammadzadehaSh, Sharriatpanahia M, Hamedie M, Amanzadehc Y, Sadat Ebrahimid SE, Ostadb SN. Antioxidant power of Iranian propolis extract. Food Chemistry 2007; 103: 729-733.

[2] Khalil ML. Biological activity of bee propolis in health and disease. Asian Pac J Cancer Prev 2006; 7: 22-31.

[3] Bankova VS, De Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in research on chemistry and plant origin. Apidologie 2000; 31: 3-15.

[4] Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. J Ethnopharmacol 2007; 113: 1-14.

[5] Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. Phytother Res 2001; 15: 561-571.

[6] Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. Evid Based Complement Alternat Med 2005; 2: 29-32.

[7] Zhu W, Chen M, Shou Q, Li Y, Hu F. Biological activities of chinese propolis and brazilian propolis on streptozotocin induced type1 diabetes mellitus in rats. Evid Based Complement Alternat Med 2011; 2011: 468529.

[8] Murata K, Yatsunami K, Fukuda E, Onodera S, Mizukami O, Hoshino G, Kamei T. Antihyperglycemic effects of propolis mixed with mulberry leaf extract on patients with type 2 diabetes. Altern Ther Health Med 2004; 10: 78-79.

[9] Fauci Anthony s, K.D.L., Longo Danl, Braunwald Euger, Hauser Stephen L, Loscalzo joseph. Harrison's principles of internal medicine. 2008 (Grow Hill): p. 2275-2297.

[10] Vincent AM, McLean LL, Backus C, Feldman EL. Short-term hyperglycemia produces oxidative damage and apoptosis in neurons. FASEB J 2005; 19: 638-640.

[11] Shikata K, Makino H. Microinflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. J Diabet Invest 2013; 4: 142-149.

[12] Singh DK, Winocour P, Farrington K. Mechanisms of disease: the hypoxic tubular hypothesis of diabetic nephropathy. Nat Clin Pract Nephrol 2008; 4: 216-226.

[13] Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 2008; 19: 433-442.

[14] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39: 44-84.

[15] Srivatsan R, Das S, Gadde R, Manoj-Kumar K, Taduri S, Rao N, et al. Antioxidants and lipid peroxidation status in diabetic patients with and without complications. Arch Iran Med 2009; 12: 121-127.

[16] Shakespeare KH. Propolis: composition, health, medicine areview. Bee Product Sci 2012; 1-29.

[17] Hui-hui H, Q.L, Dao-quan T, Zhu-min S, Xiao-xing Y, Jie Mou. Protective Effects of Quercetin on Streptozotocin-induced Diabetic Nephropathy in Rats. Phytother Res 2012; 10: 1-9.

[18] Kukner A, Colakoglu N, Ozogul C, Naziroglu M, Firat T. The effects of combined vitamin C and E in streptozotocin-induced diabetic rat kidney. J African Studies Dev 2009; 3: 214-220.

[19] Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. J food Sci 2008; 73: R117-124.

[20] Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. Methods Mol Med 2004; 99: 55-65.

[21] Lahouel M, B.K, Kebsa W, Alyane M. Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute



# Effects of hydroalcoholic extract of Iranian Propolis on blood serum biochemical factors in streptozotocin-induced diabetic rats

Hamidreza Sameni (Ph.D)<sup>1\*</sup>, Parisa Ramhormozi (M.Sc)<sup>1</sup>, Ahmadreza Bandegi (Ph.D)<sup>2</sup>, Abbasali Taherian (MD)<sup>3</sup>, Manoocher Safari (Ph.D)<sup>1</sup>, Mohammadhassan Amjad (M.Sc)<sup>1</sup>

1- Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

2- Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Biochemistry, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

3- Research Center of Physiology, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

(Received: 10 Jun 2013; Accepted: 19 Sep 2013)

**Introduction:** Diabetes is the most common endocrine disease, which in many biochemical parameters such as glucose and lipid profiles changes. Propolis is as a bee-collected natural product is very useful and has diverse biological properties. The propose of this study was to test the effects of hydro-alcoholic extracts of Iranian Propolis on serum glucose, lipids profile, BUN and creatinine levels in streptozotocin-induced diabetic Rats.

**Materials and Methods:** This study was performed on 40 male wistar rats that they were divided into 5 groups: control, diabetic, diabetic vehicle, and two groups of Propolis-treated diabetic. Diabetes was induced in the rats by single dose injection of streptozotocin (STZ, i.p., 60 mg/kg bwt). The hydro-alcoholic extracts of Propolis was administered gavages at doses of 100 and 200 mg/kg after diabetes induction for 6 weeks. At the end of administration period, the body weight, kidney weight, levels of lipid profile (LDL, HDL, TG and cholesterol), blood urea nitrogen (BUN), creatinine and glucose were measured.

**Results:** Administration of the hydro-alcoholic extracts of Iranian Propolis significantly increased body weight and reduction kidney weight in treated diabetic rats. In addition, Propolis significantly inhibited the increasing of glucose, BUN, creatinine, total cholesterol, triglyceride and LDL-c levels and increased HDL-c levels in Propolis-treated diabetic rats as compared untreated diabetics ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results indicate that hydro-alcoholic extracts of Iranian Propolis can control blood glucose and modulate some of biochemical factors in diabetic rats.

**Keywords:** Diabetes, Propolis, Streptozotocin, Blood glucose, Lipid profile

\* Corresponding author: Fax: +98 231 3354177; Tel +98 231 3354218  
hrsameni@gmail.com

## How to cite this article:

Sameni H, Ramhormozi P, Bandegi A, Taherian A, Safari M, Tabriziamjad M. Effects of hydroalcoholic extract of Iranian Propolis on blood serum biochemical factors in streptozotocin-induced diabetic rats. *koomesh*. 2014; 15 (3) :388-395

URL [http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a\\_code=A-10-23-3&slc\\_lang=fa&sid=1](http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a_code=A-10-23-3&slc_lang=fa&sid=1)