تاثیر اکالیپتوس گلوبولوس بر کلونیزاسیون کاندیدایی در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی

محمد بکائیان،[1] علیرضا نخعی،[2] بیتا مودی[3]

۱. دانشیار باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پیراپزشکی
۲. دانشیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان
۳. پژوهشگر مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۹/۲۱

Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019

چکیده

زمینه و هدف: برگ‌های اکالیپتوس گلوبولوس در طب سنتی برای درمان دیابت ملیتوس به‌کار می‌روند. هدف بررسی حاضر، ارزیابی اثرات اکالیپتوس در درمان عفونت سیستمیک کاندیدا آلبیکنس در رت‌های سالم و دیابتیک شده با استرپتوزوتوسین است.

مواد و روش‌کار: ۶۰ رت نر سالم نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انتخاب و به‌طور تصادفی به شش گروه ده‌تایی به‌ترتیب زیر تقسیم شدند: ۱- کنترل ۲- کاندیدا آلبیکنس ۳- اکالیپتوس+کاندیدا آلبیکنس ۴- کنترل دیابتیک ۵- دیابتیک+کاندیدا آلبیکنس ۶- دیابتیک+اکالیپتوس+کاندیدا آلبیکنس. دیابت تجربی در رت‌های گروه‌های ۴ تا ۶ با تزریق یک دوز درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰mg/kg) ایجاد شد و اکالیپتوس به‌مدت سه هفته به رژیم غذایی (۶۲/۵g/kg) و آب آشامیدنی (۲/۵g/l) رت‌های گروه‌های ۳ و ۶ افزوده شد. عفونت تجربی در گروه‌های ۲، ۳، ۵ و۶ در روز هفتم با تزریق درون صفاقی کاندیدا آلبیکنس ایجاد گردید. در پایان بیست و سه روز، رت‌ها در حالت ناشتا با قطع سر کشته شدند. نمونه خون از رگ گردن جهت تعیین گلوکز جمع‌آوری شد. غلظت کاندیدا آلبیکنس در کبد و کلیه‌ها با کشت رقت‌های متوالی از هموژنه بافتی ارزیابی گردید.

یافته‌ها: اکالیپتوس به‌طور معنی‌داری موجب بهبودی هیپرگلیسمی، پرنوشی، پرخوری و نیز اصلاح وزن رت‌های دیابتیک گردید(p=۰/۰۳). اضافه بر آن، اکالیپتوس موجب کاهش معنی‌دار غلظت کاندیدا آلبیکنس در هموژنه کبد و کلیه‌ها گردید (p=۰/۰۴).

نتیجه‌گیری نتایج بررسی حاضر نشانگر آن است که اکالیپتوس موجب بهبود عفونت کاندیدایی در رت‌های سالم و دیابتیک می‌باشد.**[م ت ع پ ز، ۱۳۹۰؛ ۱۳ (۹): ۲۱-۲۶]**

کلیدواژه‌ها: اکالیپتوس گلوبولوس، دیابت، استرپتوزوتوسین، رت

مقدمه

دیابت ملیتوس دربرگیرنده گروهی از بیماری‌های مزمن است که حاصل عدم تولید یا تولید ناکافی انسولین (دیابت تیپ یک) یا فقدان حساسیت به انسولین (تیپ دو) بوده و در هر دو حالت موجب هیپرگلیسمی و تغییرات شدید در متابولیسم قند و چربی می‌گردد.[1] برطبق برآوردهای سازمان بهداشت جهانی، در سال ۲۰۰۴میلادی ۱۵۰میلیون نفر از دیابت رنج برده اند و این درحالی است که بشر هنوز نتوانسته است بر این مشکل فائق آید.[2] گرچه که از زمان معرفی انسولین، درمان دیابت ملیتوس عمدتا بر مصرف شماری داروهای حاوی یا محرک تولید انسولین تمرکز یافته است ولی تا قبل از سال ۱۹۲۲ درمان این بیماری عموما با مصرف گیاهان سنتی ضد قند در رژیم غذایی صورت می‌گرفته است.[3,4] اطلاعات مردم‌شناسی موجود حاکی از آن است که بالغ بر ۸۰۰ گونه گیاه در سراسر دنیا برای درمان دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرند ولی تنها تعداد کمی از آن‌ها از نظر علمی بررسی شده‌اند.[1] یکی از این گیاهان دارویی، اکالیپتوس است که در سراسرجهان رشد کرده و گونه گلوبولوس (E. globulus) دربرخی مناطق آمریکای جنوبی و آفریقا به‌طور سنتی برای درمان دیابت به‌کار رفته است.[1] استفاده از برگ‌های اکالیپتوس در درمان دیابت ملیتوس برای نخستین بار توسط Faulds بررسی گردید و بررسی‌های بعدی بر روی موش‌های دیابتیک شده با استرپتوزوتوسین اثرات ضد قند اکالیپتوس را تایید کردند.[5,6] بررسی‌های جدیدتر In-vitro اثرات ضد التهابی و ضد میکروبی این گیاه را تایید کرده‌اند.[7,8] تاکنون گزارشی دال بر اثرات ضد میکروبی این گیاه در in-vivo منتشر نشده است. باتوجه به اثرات ضد دیابتی اکالیپتوس گلوبولوس و نیز با توجه به این‌که دیابت می‌تواند شانس ابتلا به عفونت‌های میکروبی را زیاد کند، انتظار می‌رود که مصرف این گیاه میزان کلونیزاسیون تجربی کاندیدا را در حیوانات آزمایشگاهی کاهش دهد. با توجه به نبود مطالعه‌ای در این زمینه، این پژوهش با هدف ایجاد دیابت و کاندیدیازیس تجربی در موش‌های صحرایی به‌منظور بررسی اثر تغذیه با گیاه اکالیپتوس گلوبولوس بر میزان کلونیزاسیون کاندیدایی طراحی گردید.

روش‌کار

برگ‌های اکالیپتوس گلوبولوس از بخش گیاه‌شناسی دانشگاه سیستان و بلوچستان تهیه شد و پس از خشک کردن، کاملا نرم شده و تا هنگام استفاده در دمای اطاق نگهداری شد. برای خوراندن اکالیپتوس به رت‌ها این پودر کاملا نرم شده و به خوراک پودر شده حیوان اضافه شد (۶۲/۵g/kg) و پس از افزودن آب مقطر و گذراندن از قیف مخصوص، حب‌هایی از آن تهیه شد و این حب‌ها در دمای ۴۵°C خشک شدند.[9] برای تهیه عصاره آبی اکالیپتوس، یک گرم از پودر اکالیپتوس در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و پس از رساندن آن به نقطه جوش و قطع کردن حرارت، محلول مدت پانزده دقیقه به

آدرس نویسنده مسئول: زاهدان، دانشکده پیراپزشکی

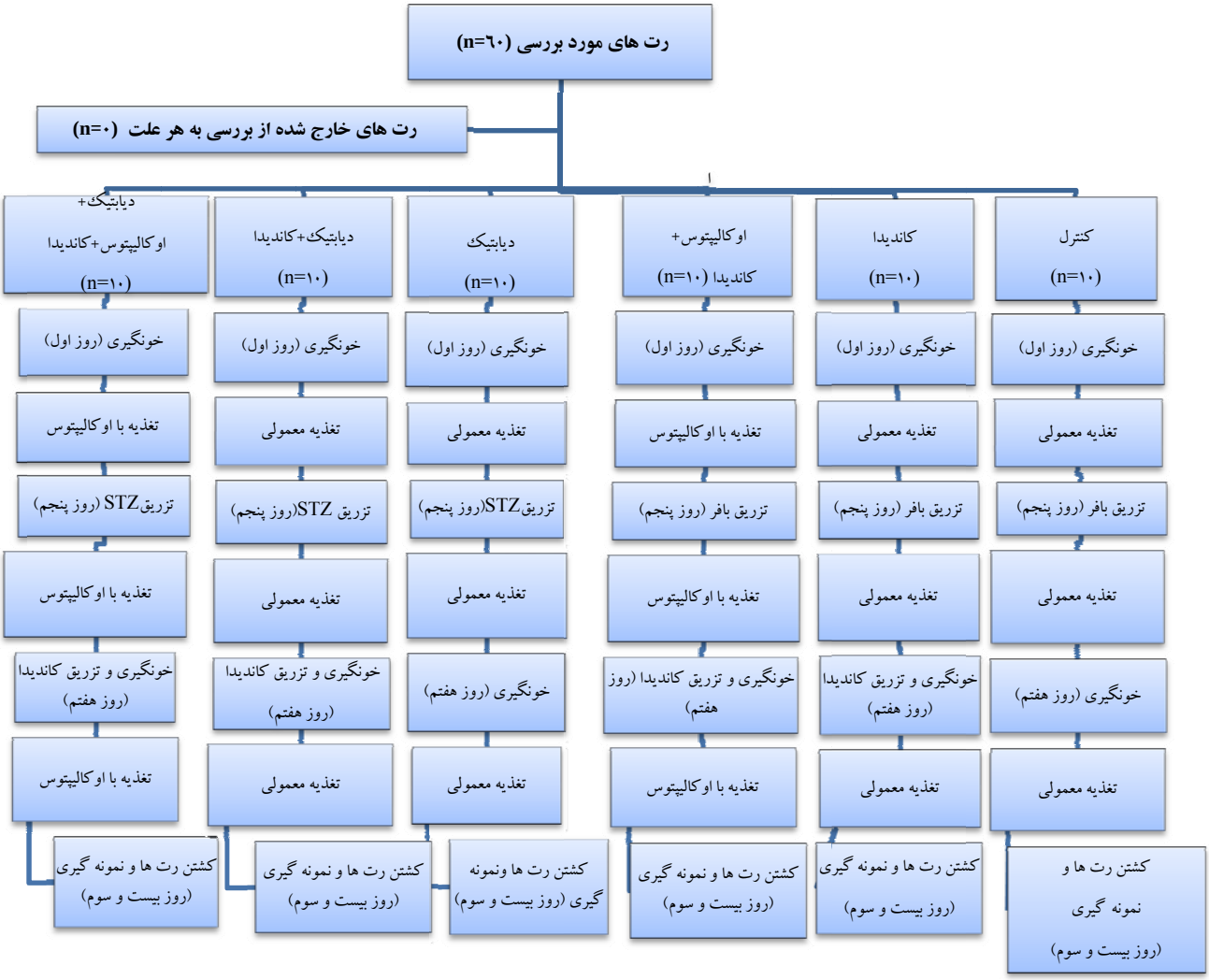
email: bokaeian.m@gmail.com

Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019

حال خود رها شد تا دم بکشد. این محلول سپس با عبور از فیلتر (واتمن شماره یک) صاف و حجم نهایی با آب مقطر به ۴۰ میلی‌لیتر رسانده شد.[۹] هنگام استفاده، ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول توسط آب شیر به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد. در این بررسی، تعداد ۶۰ رت (۳۰ رت دیابتیک و ۳۰ رت نرمال) نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. این حجم نمونه با توجه به عدم تفاوت ژنتیکی بین رت‌ها و نیز مطالعات مشابه انتخاب گردید. رت‌ها در دمای ۲۲±۲°C و دوره‌های منظم ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی نگهداری شدند. کلیه رت‌ها آزادانه به رژیم غذایی استاندارد و آب آشامیدنی دسترسی داشتند و هر چهار رت در یک قفس نگهداری شدند. هنگام کار با رت‌ها پروتکل‌های بین‌المللی کار با حیوانات کاملا رعایت گردید. رت‌ها به روش تصادفی به شش گروه ده‌تایی به ترتیب زیر تقسیم شدند: گروه اول (کنترل): رت‌های کنترل طبیعی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند. گروه دوم (کاندیدا): رت‌های طبیعی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند و کاندیدا آلبیکنس به آن‌ها تزریق شد.

گروه سوم (اکالیپتوس+کاندیدا): رت‌های طبیعی که رژیم غذایی استاندارد به اضافه اکالیپتوس دریافت کردند و کاندیدا آلبیکنس به آن‌ها تزریق شد. گروه چهارم (دیابتیک): رت‌های دیابتیک که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند. گروه پنجم (دیابتیک+کاندیدا): رت‌های دیابتیک که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند و کاندیدا آلبیکنس به آن‌ها تزریق شد. گروه ششم (دیابتیک+اکالیپتوس+کاندیدا): رت‌های دیابتیک که رژیم غذایی استاندارد به اضافه اکالیپتوس دریافت کردند و کاندیدا آلبیکنس به آن‌ها تزریق شد. برای هر گروه، مصرف آب، غذا و تغییرات وزن به‌طور روزانه کنترل و ثبت گردید (دیاگرام ۱). رت‌های گروه‌های ۴ تا ۶ در روز پنجم بررسی با محلول تازه تهیه شده استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) در ۰/۱ مول بر لیتر بافر سیترات مورد تزریق قرار گرفتند.[۱۰] رت‌های کنترل (گروه‌های ۱ تا ۳) با همین مقدار بافر بدون استرپتوزوتوسین مورد تزریق قرار گرفتند. صحت ایجاد دیابت با اندازه‌گیری قند سرم ۴۸ ساعت پس از تزریق استرپتوزوتوسین (≥۱۸۰ mg/dl) تایید گردید.

دیاگرام ۱: ترتیب مراحل آزمایش



Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019

کاندیدیازیس تجربی در رت‌های گروه‌های دو، سه، پنج و شش در روز هفتم با تزریق درون صفاقی سوسپانسیون ۲۴ ساعته کاندیدا آلبیکنس (C.albicans ATCC 10731) در محیط کشت سابورودکستروز آگار (SDA) ایجاد گردید. برای این منظور، ابتدا خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی سلول‌های مخمری با بررسی‌های میکروسکوپی، مورفولوژی کلنی روی محیط SDA، تشکیل لوله زایا در سرم، تشکیل کلامیدوسپور در محیط کلامیدوسپورآگار و تخمیر قند تایید شد و سپس رت‌های مورد نظر با ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر (10^5 CFU/ml) درسرم فیزیولوژی استریل مورد تزریق قرار گرفتند.[10] برای تایید غلظت مخمر، رقت‌های ۱ به ۱۰ از سوسپانسیون اولیه در محیط SDA پورپلیت شده و پس از ۲۴ ساعت، کلنی‌ها شمارش گردید. به‌منظور بررسی گلوکز سرم رت‌ها در طول بررسی، نمونه‌های خون در حجم یک میلی‌لیتر در روزهای اول، هفتم و بیست وسوم گرفته شد و پس از جدا کردن لخته، سرم با سانتریفوژ جدا شد. برای تعیین گلوکز سرم از روش گلوکز-اکسیداز استفاده گردید.[11] در خاتمه ۲۳ روز بررسی، رت‌ها در حالت ناشتا بیهوش شده و با قطع سر کشته شدند. برای ارزیابی کاندیدا در ارگان‌ها، کبد و دو کلیه هر حیوان جدا شده و بعد از شستشو و پاک کردن خون موجود، در ۵ میلی‌لیترسرم فیزیولوژی با pH=۷ هموژنیزه گردید. از این محلول، رقت‌های متوالی ۱به۱۰ تهیه شده و ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت‌های حاوی SDA پورپلیت گردید و پس از۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C تعداد ارگانیزم در کلیه‌ها و کبد هر حیوان برحسب CFU/ml محاسبه شد.[10] برای آنالیز آماری از نرم افزار SPSS-10 استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌های داده‌های کمی در بین گروه‌ها، ازآزمون ANOVA و Tukey استفاده گردید. ملاک آماری برای معنی‌دار بودن تفاوت‌ها $p<۰/۰۵$ درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

تفاوت‌های مهم گروه‌های مورد آزمایش از نظر وزن بدن، مصرف آب و غذا و میزان گلوکز سرم در روزهای اول، هفتم و بیست و سوم در جدول ۱ نشان داده شده است. در انتهای بررسی، مصرف روزانه آب و غذا در رت-های نرمال به‌ترتیب ۲±۵۱/۲ میلی‌لیتر و ۰/۷±۲۳/۱ گرم بود. در حالی‌که در رت‌های دیابتیک این میزان به‌ترتیب ۳/۷±۹۸/۵ میلی‌لیتر و ۱/۱±۴۴/۶ گرم بود و رت‌های دیابتیک کاهش معنی‌داری در وزن‌گیری (p=۰/۰۴۲) و افزایش معنی‌داری در پرنوشی (p=۰/۰۰۹) و پرخوری (p=۰/۰۰۸) نشان دادند. مصرف اکالیپتوس موجب اصلاح معنی‌دار وزن‌گیری (p=۰/۰۴۲)، پرنوشی (p=۰/۰۰۹) و پرخوری(p=۰/۰۰۸) رت‌های دیابتیک گردید. میزان گلوکز سرم در رت‌های نرمال و دیابتیک به‌ترتیب ۲/۷±۹۱/۱ mg/dl و ۵/۵±۲۸۱/۴ mg/dl بود. میزان گلوکز سرم در رت‌های دیابتیک در مقایسه با رت‌های نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد (p=۰/۰۴۵) و مصرف اکالیپتوس به‌نحو معنی‌داری (p=۰/۰۰۸) موجب اصلاح این وضعیت در رت‌های دیابتیک گردید در حالی‌که تاثیری بر گلوکز سرمی رت‌های نرمال نداشت.

در جدول ۲ میزان کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس در هموژنه کبد و کلیه‌ها در رت‌های مورد بررسی نشان داده شده است. غلظت کاندیدا در رت‌های دیابتیک به میزان معنی‌داری بیشتر از رت‌های نرمال بود (p=۰/۳۷). در تمام رت‌های مورد بررسی، کلونیزاسیون کاندیدا در هموژنه کلیه‌ها به‌نحو بارزی بیشتر از کبد بود (p=۰/۰۱) و مصرف اکالیپتوس موجب کاهش بارز این کلونیزاسیون در رت‌های نرمال و دیابتیک گردید (p=۰/۰۱).

جدول ۱: اثرات اکالیپتوس موجود در غذا و آب آشامیدنی بر وزن بدن، مصرف آب و غذا و گلوکز سرم رت‌های نرمال و دیابتی

متغیر		کنترل Mean±SD	کاندیدا Mean±SD	اکالیپتوس+کاندیدا Mean±SD	دیابتیک Mean±SD	دیابتیک+کاندیدا Mean±SD	دیابتیک+اکالیپتوس+کاندیدا Mean±SD	p
وزن بدن (گرم)	روز ۱	۲۲۱/۸±۵/۱	۲۱۸/۳±۵/۴	۲۱۶/۷±۴/۹	۲۱۰/۶±۴/۳	۲۰۹/۹±۳/۳	۲۱۱/۷±۵/۵	۰/۲۲۶
	روز ۷	۲۸۸/۷±۲/۴	۲۴۷/۹±۵/۹	۲۷۸/۶±۶/۴	۲۱۵/۱±۳/۸	۲۱۰/۱±۴/۲	۲۴۰/۳±۶/۶	۰/۰۰۹
	روز ۲۳	۳۳۵/۰±۴/۱	۳۱۹/۰±۷/۰	۳۲۰/۱±۵/۸	[a]۲۲۰/۴±۴/۱	۲۱۵/۸±۳/۷	۲۷۰/۶±۶/۹ [b]	۰/۰۴۵
مصرف آب (ml/day)	روز ۱	۳۸/۴±۴/۸	۳۹/۷±۴/۲	۳۷/۴±۳/۸	۳۹/۶±۴/۹	۴۰/۳±۵/۱	۳۷/۳±۴/۶	۰/۲۱۸
	روز ۷	۴۵/۵±۱/۸	۴۵/۴±۰/۹	۴۴/۷±۱/۱	۸۸/۲±۷/۹	۹۰/۰±۸/۳	۶۵/۰±۱۱/۲	۰/۰۴۸
	روز ۲۳	۵۱/۲±۲/۰	۴۶/۳±۱/۷	۴۷/۵±۱/۹	[a]۹۸/۵±۳/۷	۱۰۲/۲±۴/۶	۷۰/۲±۵/۳ [b]	۰/۰۰۹
مصرف غذا (g/day)	روز ۱	۱۴/۸±۱/۳	۱۴/۶±۱/۱	۱۴/۵±۱/۵	۱۹/۲±۱/۸	۲۰/۳±۱/۴	۱۷/۹±۱/۷	۰/۲۸۲
	روز ۷	۱۹/۲±۱/۸	۱۵/۷±۰/۸	۱۸/۸±۰/۶	۳۸/۳±۱/۹	۳۶/۹±۱/۸	۴۲/۲±۲/۳	۰/۰۰۹
	روز ۲۳	۲۳/۱±۰/۷	۲۱/۸±۱/۰	۲۳/۱±۰/۶	[a]۴۴/۶±۱/۱	۴۳/۲±۱/۰	۳۵/۵±۲/۴ [b]	۰/۰۰۸
گلوکز سرم (mg/dl)	روز ۱	۹۰/۸±۲/۵	۹۰/۴±۱/۶	۹۰/۲±۱/۳	۱۸۹/۵±۲/۸	۱۸۶/۴±۲/۴	۱۸۳/۸±۲/۴	۰/۱۵۳
	روز ۷	۹۰/۰±۲/۲	۸۸/۷±۱/۱	۸۹/۹±۱/۶	۲۲۸/۲±۳/۶	۲۲۴/۲±۴/۱	۱۸۰/۳±۲/۸	۰/۰۳۲
	روز ۲۳	۹۱/۱±۲/۷	۸۷/۳±۱/۴	۸۸/۹±۱/۷	[a]۲۸۱/۴±۵/۵	۲۷۳/۲±۵/۲	۲۲۹/۲±۴/۱ [b]	۰/۰۴۷

a: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با رت‌های کنترل، **b**: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با رت‌های دیابتیک

جدول ۲: غلظت کاندیدا آلبیکنس در هموژنه کبد و کلیه‌ها

گروه	کنترل	کاندیدا	اکالیپتوس+کاندیدا	دیابتیک	دیابتیک+ کاندیدا	دیابتیک+اکالیپتوس+کاندیدا

آدرس نویسنده مسئول: زاهدان، دانشکده پیراپزشکی

email: bokaeian.m@gmail.com

غلظت کاندیدا در بافت					
کبد	۰	۳/۶۶±۰/۰۷	^{b}۲/۳۹±۰/۰۹	۰	^{a}۵/۳۵±۰/۱۸	^{b}۴/۴۰±۰/۲۲
کلیه‌ها	۰	۴/۹۱±۰/۱۹	^{b}۳/۲۴±۰/۱۴	۰	^{a}۵/۵۱±۰/۱۶	^{b}۴/۷۱±۰/۲۰

a: $p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل **b**: $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که اکالیپتوس موجب بهبود هیپرگلیسمی، پرنوشی، پرخوری و نیز اصلاح وزن رت‌های دیابتیک گردید. ضمنا این گیاه موجب کاهش غلظت کاندیدا آلبیکنس در کبد و کلیه‌ها گردید. در بررسی‌های Fisher و همکاران،[۱۰] Holemans و همکاران[۱۲] و Flatt-Swanston و همکاران[۶] نیز کمابیش نتایج مشابهی به‌دست آمده است. در بررسی ما، وارد کردن اکالیپتوس به غذا و آب آشامیدنی رت‌های دیابتیک موجب کاهش هیپرگلیسمی و اصلاح وزن‌گیری رت ها گردید. این یافته‌ها در تطابق با یافته‌های سایر محققان است که گزارش کرده‌اند مصرف طولانی‌مدت اکالیپتوس در رژیم غذایی موش‌های دیابتیک شده با استرپتوزوتوسین موجب تعدیل در کاهش وزن و پرنوشی حیوان شده و هیپرگلیسمی را نیز تاحدودی جبران می‌کند.[۶،۱۳] در مورد نحوه اثرات ضددیابتی اکالیپتوس مطالعات گوناگونی صورت گرفته است. Ahlem و همکارانش بهسازی و تحریک سلول‌های پریفرال به انسولین باقیمانده و نیز خواص آنتی اکسیدانی ترکیبات موجود در اکالیپتوس را در کاهش قند توسط عصاره اکالیپتوس موثر دانسته‌اند.[۱] ثاقب و همکارانش نیز گزارش کرده‌اند که مصرف اکالیپتوس در غذا و آب رت‌های دیابتیک به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند آسیب‌های وارد بر سلول‌های بتای پانکراس را تا حدودی ترمیم کند.[۱۴] در همین رابطه، Amakura و همکارانش با استفاده از تکنیک HPLC مهم‌ترین اجزای آنتی‌اکسیدان برگ‌های اکالیپتوس را گالیک اسید، الاجیک اسید و گالوتانین ذکر کرده‌اند.[۵] Hasegawa و همکارانش نیز استخراج گلیکوزیدهای مونوترپنی متصل به گالیک اسید (گلوبولوسین‌های A و B) را از عصاره آبی اکالیپتوس گلوبولوس گزارش کرده‌اند.[۱۵]

مدل کاندیدیازیس تجربی در رت‌ها که در بررسی فعلی مورد استفاده قرار گرفته یکی ازعفونت‌های سیستمیک و تحت حادی است که معمولا به مدت چند هفته به‌خوبی از طرف حیوان تحمل شده و خود بخود نیز بهبود نمی‌یابد. این مدل عفونت، با تاخیر چند روزه در درمان، تقلید کننده عفونت انسانی می‌باشد.[۱۰] در برخی بررسی‌ها برای ایجاد عفونت سیستمیک تجربی از تزریق درون رگی کاندیدا استفاده شده که ضمن شدید بودن عفونت، چندان شباهتی هم با مدل عفونت‌های انسانی ندارد.[۱۶] ما دریافتیم کلونیزاسیون کاندیدایی کبد و کلیه‌ها در رت‌های دیابتیک به طور معنی‌داری بیشتر از رت‌های طبیعی می‌باشد. در بررسی Fisher و همکارانش نیزگزارش گردیده که تلقیح کاندیدا آلبیکنس به رت‌های دیابتیک منجر به عفونت شدیدتری در مقایسه با رت‌های سالم می‌گردد.[۱۰] سایر محققان نیز در بررسی‌های خود گزارش کرده‌اند که ابتلا به دیابت می‌تواند زمینه‌ساز عفونت‌های مختلف میکروبی وقارچی باشد.[۸] بدین ترتیب، افزایش کلونیزاسیون کاندیدایی در رت‌های دیابتیک می‌تواند ناشی از ابتلای آن‌ها به دیابت باشد. در بررسی Fisher و همکاران خاطر نشان شده که شدت دیابت در کنار ماهیت پیشرونده کاندیدیازیس در رت‌های مورد آزمایش، در مثبت ماندن کشت اکثر رت‌های دیابتی تلقیح شده با کاندیدا (حتی پس ازگذشت سه هفته ازآغاز درمان ضد کاندیدایی) موثر بوده است.[۱۰] برخی بررسی‌ها حاکی از آن است که در افراد طبیعی، مکانیزم‌های کنترلی موثر و متعددی در دفاع منسجم در برابر کاندیدا آلبیکنس نقش دارند در حالی‌که در افراد دیابتیک این مکانیزم‌ها دچار نقص می‌شوند.[۱۷] ما دریافتیم که در رت‌های نرمال و دیابتیک، کلونیزاسیون کلیوی کاندیدا در مقایسه با کلونیزاسیون کبدی آن افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. در اکثر عفونت‌های تجربی سیستمیک، کلیه‌ها بیشترین کانون‌های عفونت را در سراسر آزمایش نشان داده‌اند.[۱۷] علت حساسیت زیاد کلیه‌ها به عفونت کاندیدایی روشن نیست ولی شرایط فیزیولوژیک،[۱۷] وضعیت آناتومیک[۱۸] و ضعف سیستم فاگوسیتیک[۱۹،۲۰] را در این زمینه دخیل دانسته‌اند.

در بررسی حاضر بعد از کلیه‌ها، کبد بیشترین کلونیزاسیون کاندیدایی را نشان داد. استعداد کبد به کلونیزاسیون کاندیدایی در عفونت‌های مزمن تجربی از جانب برخی محققان دیگر هم گزارش شده است.[۲۰،۲۱] Baghian و همکارش گزارش کرده‌اند که استعداد کبد به کلونیزاسیون قارچی می‌تواند ناشی از ورود مونوسیت‌ها و سلول‌های PMN نابالغ از مغز استخوان باشد.[۲۲] براساس همین بررسی، این سلول‌ها حاوی تعداد بیشتری لیزوزم‌های غیر طبیعی غول‌آسا هستند که در فرآیند ادغام فاگوزوم- لیزوزوم کارآمد نیستند و این وضعیت، فرصتی را برای رشد مخمرها و ایجاد کانون‌های عفونت در کبد فراهم می‌آورد. مصرف اکالیپتوس اثر مهاری بارزی بر رشد کاندیدا آلبیکنس در کلیه‌ها و کبد رت‌ها نشان داد. تاکنون گزارشی از اثرات ضد کاندیدایی اکالیپتوس در دیابت‌های تجربی در حیوانات گزارش نشده است. در یک بررسی بر روی موش‌هایی که به روش درون رگی با کاندیدا آلبیکنس آلوده شده و سپس با هامایسین درمان شده بودند گزارش شده که با شروع مصرف هامایسین، کلونیزاسیون کاندیدایی در کلیه‌ها کاهش یافته و در انتهای بررسی به صفر رسیده است.[۱۶] براساس گزارش رمضانی و همکارانش، مونوترپن‌های استخراج شده از گونه‌های اکالیپتوس فعالیت آنتی‌باکتریال دارند.[۲۳] برخی بررسی‌های in-vitro تاثیرات ضد باکتریایی[۲۶-۸] و ضد قارچی[۲۸-۸] اکالیپتوس را تایید کرده‌اند ولی تاکنون گزارشی دال بر تاثیر ضد میکروبی این گیاه در in-vivo منتشر نشده است.

در مجموع می‌توان گفت که اکالیپتوس موجب بهبودی علایم دیابت از قبیل هیپرگلیسمی، پرنوشی و پرخوری در حیوانات دیابتیک شده و کاهش وزن آن‌ها را اصلاح می‌کند و در بهبود عفونت سیستمیک کاندیدایی کبد و

Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019

کلیه‌ها موثر است. باید خاطر نشان کرد که در بررسی حاضر ما به‌علت کمبود امکانات موفق به تخلیص اجزای موثر گیاه و بررسی اثرات این اجزا بر میزان کلونیزاسیون کاندیدایی در رت‌ها نشدیم. لذا با توجه به اثرات ضد کاندیدایی و ضد دیابتیک اکالیپتوس گلوبولوس توصیه می‌شود مطالعات بیشتری در مورد مواد موثر دارویی این گیاه صورت گرفته و کاربرد خوراکی این گیاه در درمان دیابت و عوارض مختلف آن دقیقا مطالعه شود و تجزیه و تخلیص مواد متشکله اکالیپتوس با تکنیک‌هایی از قبیل HPLC در این زمینه می‌تواند کارگشا باشد.

سپاسگزاری

هزینه‌های مربوطه از طریق طرح تحقیقاتی شماره ۸۴۴ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان تامین گردیده است.

References

1. Ahlem S, Khaled H, Wafa M, et al. Oral administration of Eucalyptus globulus extract reduces the alloxan induced oxidative stress in rats. Chem Biol Interact 2009; 181(1): 71-76.
2. World Health Organization; http:/www.who.int/ medacenter/factsheets/138/en/Page1-3.
3. Bailey CJ. Potential new treatments for type 2 diabetes. Trends Pharmacol Sci 2000; 21(7): 259-265.
4. Gray AM, Flatt PR. Pancreatic and extra pancreatic effects of the traditional anti-diabetic plants. Medicago sativa (alfalfa). Brit J Nutr 1997; 78(2): 325-334.
5. Amakura Y, Yoshimura M, Sugimoto N, et al. Marker constituents of the natural antioxidant eucalyptus leaf extract for the evaluation of food additives. Biosci Biotechnol Biochem 2009; 73(5): 1060-1065.
6. Swanston-Flatt SK, Day CJ, Flatt PR. Traditional plant treatments for diabetes: Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. Diabetologia 1990; 33(8): 462-464.
7. Vigo E, Cepeda A, Gualillo O and Perez-Fernandez R. In-vitro anti-inflammatory effect of Eucalyptus globulus and Thymus vulgaris: Nitric oxide inhibition in J7744A.1 murine macrophages. J Pharm Pharmacol 2004; 56(2): 257-63.
8. Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M. Antimicrobial activities of Eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculate. Lett Appl Microbiol 2004; 39(1): 60-4.
9. Gray AM, Flatt PR. Antihyperglycemic actions of Eucalyptus globulus (Eucalyptus) are associated with pancreatic and extra-pancreatic effects in mice. J Nutr 1998; 128(12): 2319-23.
10. Fisher MA, Lee PG, Tarry WF. Fluconazole (UK-49,858) treatment of candidiasis in normal and diabetic rats. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33(7): 1042-45.
11. Barham D, Trinder P. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 1972; 97(151): 142-145.
12. Holemans K, Bree RV, Verhaeghe J, et al. Maternal semi starvation and streptozotocin-diabetes in rats have different effects on the in-vivo glucose uptake by peripheral tissues in their female adult offspring. J Nutr 1997; 127(7): 1371-6.
13. Akbarzadeh A, Noruzian S, Jamshidi A, et al. Treatment of streptozotocin induced diabetes in male rats by immunoisolated transplantation of islet cells. Ind J Clin Biochem 2007; 22(1): 71-76.
14. Mahmoudzadeh-Sagheb H, Heidari Z, Bokaeian M, et al. Antidiabetic effects of Eucalyptus globulus on pancreatic islets: A stereological study. Folia Morph (Warsz) 2010; 69(2): 112-8.
15. Hasegawa T, Takano F, Takata T, et al. Bioactive monoterpene glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of Eucalyptus globulus. Phtochemistry 2008; 69(3): 747-753.
16. Dhuley JN. Hamycin therapy of murine disseminated candidiasis: Efficacy and interaction with fluconazole. Rocz Akad Med Bialymst 2001; 46: 326-33.
17. Baghian A, Lee KW. Role of activated macrophages in resistance to systemic candidosis. J Leukok Biol 1988; 44(3): 166-71.
18. Giger DK, Domer JE, Moser SA, et al. Experimental murine candidiasis: Pathological and immune responses in T lymphocyte depleted mice. Infect Immun 1978; 21(3): 729-737.
19. Louria DB, Brayton RG, Finkel G. Studies on the pathogenesis of experimental Candida albicans infections in mice. [Abstract]. Sabouraudia 1963; 2: 271.
20. Winblad B. Experimental renal candidiasis in mice and guinea pigs. Acta Pathol Microbiol Scand 1975; 83(4): 406-414.
21. Yamashiro S, Kawakami K, Uezu K, et al. Lower expression of Th1-related cytokines and inducible nitric oxide synthase in mice with streptozotocin-induced diabetes mellitus infected with Mycbacterium tuberculosis. Clin Exp Immunol 2005; 139(1): 57-64.
22. Baghian A, Lee KW. Elimination of Candida albicans from kidneys of mice during short-term systemic infections. Kidney Int 1991; 40(3): 400-405.
23. Ramezani H, Singh HP, Batish DR, et al. Antifungal activity of the volatile oil of Eucalyptus citriodora. Fitoterapia 2002; 73(3): 261-262.
24. Ghalem BR, Mohamed B. Antibacterial activity of leaf essential oils of Eucalyptus globulus and Eucalyptus camaldulensis. Afr J Pharmacol 2008; 2(10): 211-215.
25. Salari MH, Amine G, Shirazi MH, et al. Antibacterial effects of Eucalyptus globulus leaf extract on pathogenic bacteria isolated from specimens of patients with respiratory tract disorders. Clin Microbiol Infect 2006; 12(2): 194-196.
26. Schelz Z, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia 2006; 77(4): 279-285.
27. Rai MK. Invitro evaluation of medicinal plant extracts against Pestalotiopsis mangiferae. Hindustan Antibiot Bull 1996; 38(1-4): 53-6.
28. Canhoto C, Graca MA. Leaf barriers to fungal colonization and shredder (Tipula lateralis).consumption of decomposing Eucalypyus globulus. Microb Ecol 1999; 37(3): 163-172.

Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019

Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019

Effect of E.globulus upon Candida colonization in normal and diabetic rats

Mohammad Bokaeian,[1] Alireza Nakhaee,[2] Bita Moodi[3]

Received: 26/Sept/2009
Accepted: 12/Dec/2009

***Background*:** The leaves of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) are used for treatment of diabetes mellitus in traditional medicine. The aim of present study is to evaluate the effects of eucalyptus in treatment of systemic infection with *Candida albicans* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats.

Materials and Method: Sixty normoglycemic male Wistar rats, weighing 200-250 g, were selected and randomly divided into six groups (n=10): I. normal control, II. control+*C. albicans*, III. control+eucalyptus+*C. albicans*, IV. Diabetic control, V. diabetic+*C. albicans*, VI. diabetic+eucalyptus+*C. albicans*. Experimental diabetes was induced in IV-VI groups after a single intraperitoneal injection of streptozotocin (60 mg/kg body weight) and eucalyptus was added to the diet (62.5 g/kg) and drinking water (2.5 g/L) of III and VI groups for 3 weeks. The II, III, V, and VI groups were inoculated with *C. albicans* in seventh day using intraperitoneal injection of *C. albicans*. At the end of 23 days experiment, fasted rats were killed by cervical decapitation. Blood was collected from neck vein for estimation of glucose. *C. albicans* concentrations were estimated in liver and kidneys using serial dilution culture of tissue homogenates.

Results: Eucalyptus administration significantly improved the hyperglycemia, polydipsia, polyphagia, and it also compensated weight loss of diabetic rats (p=0.05). Moreover, eucalyptus caused a significant reduction in *C. albicans* concentration in liver and kidney homogenates (p=0.04).

Conclusion: The results revealed that eucalyptus improves *Candidia* infection in normal and diabetic rats. [ZJRMS, 2012; 13(9): 21-26]

Keywords: *Eucalyptus globulus*, diabetes, streptozotocin, rat

1. **Associate Professor of Medical Bacteriology, School of Paramedical Sciences, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran.**
2. **Associate Professor of Biochemistry, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran.**
3. **Researcher of Biochemistry, Cell and Molecular Research Center, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran.**

Please cite this article as: Bokaeian M, Nakhaee A, Mo
colonization in normal and diabetic rats. Zahedan J Res Me

Downloaded from zjrms.ir at 22:48 +0430 on Tuesday May 14th 2019