

اثر عصاره بادرنجبویه بر لیپیدها و لیپوپروتئین‌های خون و پیشگیری از دیابت در رت

صدیقه خودسوز^{*}، سید جمال مشتاقیان

چکیده

مقدمه: گیاهان برای درمان دیابت در سراسر جهان قرن‌هاست که مورد استفاده قرار می‌گیرند. بررسی‌های انجام شده، نشان داده است که دسته‌های متعددی از ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان به‌طور بالقوه در درمان دیابت مؤثر هستند. بادرنجبویه با اسم علمی *Melissa Officinalis* گیاهی از تیره نعنائیان است. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بادرنجبویه در پیشگیری از دیابت و همچنین اثر آن بر لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرمی در موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. روش‌ها: در این مطالعه ۲۵ موش صحرایی نر، با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم به‌طور نیمه تصادفی به پنج گروه پنج تایی تقسیم شدند. گروه ۱ (کنترل سالم)، گروه ۲ (کنترل دیابتی) و گروه‌های ۳، ۴ و ۵ به ترتیب عصاره با دوزهای ۲۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، به مدت ۲ هفته روزانه از طریق گاوژ دریافت کردند و سپس با تزریق داخل صفاقی آلوکسان با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، دیابت در حیوانات القا شد. به‌منظور اندازه‌گیری غلظت سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL خونگیری از رت‌ها انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاکی از کاهش معنی‌دار میزان قندخون، کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بود ($p < 0/05$). علاوه بر این در گروه‌های تیمار شده، میزان HDL افزایش معناداری نسبت به گروه دیابتی یافته بود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد که عصاره بادرنجبویه می‌تواند به‌طور مؤثر در پیشگیری، کنترل و کاهش عوارض پیچیده دیابت استفاده شود. تأثیر این عصاره احتمالاً به‌دلیل وجود فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در این گیاه است.

واژگان کلیدی: دیابت، آلوکسان مونوهیدرات، عصاره هیدروالکلی، بادرنجبویه، پروفایل لیپیدی

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

* **نشانی:** اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۰۳۱۰۳۱-۷۹۳۲۴۶۵ فاکس:

۷۹۳۲۴۶۵. کد پستی: ۷۳۴۴۱-۸۱۷۴۶، پست الکترونیک: khodsooz_s@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۴/۲۵

تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۴/۰۴/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۰۲

مقدمه

دیابت وابسته به انسولین (IDDM) که به دیابت نوع یک معروف است، شکلی از دیابت شیرین است که در نتیجه تخریب خود ایمنی سلول‌های بتای تولید کننده انسولین از پانکراس ایجاد می‌شود [۱]. کمبود یا فقدان کامل ترشح انسولین منجر به افزایش سطح گلوکز خون می‌شود. بالا بودن سطح گلوکز خون با سه علامت همراه است: پُلی‌اوری (افزایش دفع ادرار)، پُرنوشی (افزایش تشنگی) و کاهش وزن بدن [۲-۵].

در بیماران مبتلا به دیابت نوع یک، اختلالات لیپیدی یا Hyperlipidemia وجود دارد؛ از جمله افزایش سطح کلسترل تام سرم (TC)، تری‌گلیسرید (TG)، لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL)، لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین (VLDL) و کاهش سطح لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) [۶-۸، ۲].

اختلالات لیپیدی به‌طور قابل ملاحظه‌ای به‌عنوان فاکتور خطر ساز بیماری عروق کرونر قلب در این بیماران نشان داده شده است. بنابراین به‌نظر می‌رسد که توجه به اختلالات لیپیدی، در بیماران مبتلا به دیابت نوع یک، به‌منظور کاهش بیماری‌های قلبی عروقی در این جمعیت مهم باشد [۹-۱۱].

بادرنجبویه گیاهی چند ساله است که تا حدود ۱۰۰ سانتیمتر رشد می‌کند. منشأ این گونه از جنوب اروپا، آسیا و بخش‌هایی از شمال و جنوب آمریکا است. جمعیت بادرنجبویه در همه کشورهای مدیترانه‌ای، از جمله مناطق ساحلی ترکیه و شمال ایران، توزیع شده است [۱۲-۱۴].

بادرنجبویه یکی از قدیمی‌ترین و رایج‌ترین گیاهان دارویی است که متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد. بوی لیمو از مشخصات این گیاه است و به همین دلیل به آن lemon balm هم گفته می‌شود. در طب سنتی از این گیاه به‌صورت عصاره گیاهی، کرم و یا چای دم‌کرده برای بیماری‌های مختلف مانند درمان بیماری‌های عصبی، اختلالات خواب، بهبود عملکرد بیماری‌های دستگاه گوارش، افسردگی، میگرن، دندان درد، سردرد و فشارخون بالا، رماتیسم و دردهای عصبی استفاده می‌شود [۱۲]. برگ بادرنجبویه محتوی آلدئید مونوترپنوئید (monoterpenoid)

(aldehyde) فلاونوئیدها (کوئرستین، لوتولین)، ترکیبات پُلی فنولیک (رزماریک اسید، اسید کافئیک)، تری‌ترین‌ها، تانن‌ها، اسانس‌های مهم (سیترال) می‌باشد [۱۷-۱۵]. در مطالعات انجام شده، نشان داده شده است که اسانس بادرنجبویه به‌دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش قندخون می‌شود. از آنجا که استرس اکسیداتیو و گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند باعث ایجاد دیابت و عوارض مرتبط با آن شوند، مصرف مناسب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند اسانس بادرنجبویه ممکن است در پیشگیری یا بهبود علائم دیابت یا عوارض آن مفید باشد [۱۸].

عصاره‌های گیاهی متعددی شناخته شده‌اند که دارای خواص ضد دیابتی هستند و همچنین گزارش شده است که تعداد زیادی از ترکیبات عصاره‌های گیاهی اثرات مفیدی برای درمان دیابت دارند [۲۲]. دیابت می‌تواند توسط رژیم غذایی، ورزش و داروهای شیمیایی کنترل شود. با این حال داروهای شیمیایی یا گران قیمت هستند یا دارای اثرات جانبی نامطلوبی می‌باشند. در سراسر جهان، درمان‌های سنتی با گیاهان دارویی برای درمان دیابت وجود دارد که ترکیبات نهفته در این گیاهان به‌طور طبیعی برای کنترل دیابت مفید هستند. گیاهان دارویی طبیعی که غالباً مصرف می‌شوند دارای سمیت و اثرات جانبی کمتری نسبت داروهای شیمیایی می‌باشند [۲۳].

در مطالعه حاضر پژوهش در زمینه اثر پیشگیری کننده عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر دیابت در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان و همچنین تأثیر این عصاره بر میزان لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرمی، مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

ماده گیاهی و تهیه عصاره هیدروالکلی

برگ‌های خشک شده گیاه بادرنجبویه از شرکت ایرانی نوش اصفهان خریداری شد. برگ‌های خشک شده با استفاده از آسیاب برقی پودر گردید. ۱۵۰ گرم از برگ پودر شده در ارلن یک لیتری ریخته شد و ۶۰۰ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد به آن اضافه گردید. نمونه به مدت ۲۴ ساعت در

گروه ۲- موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان: این گروه نیز داروی آلوکسان مونوهیدرات را با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، از طریق تزریق داخل صفاقی و فقط یکبار تزریق دریافت کردند ولی هیچ عصاره دیگری دریافت نکردند.

گروه ۳- موش‌های صحرایی سالم که عصاره با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، به مدت ۲ هفته روزانه از طریق گاوژ دریافت کردند، سپس با یکبار تزریق داخل صفاقی آلوکسان با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، دیابتی شدند.

گروه ۴- موش‌های صحرایی سالم که عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، روزانه به مدت ۲ هفته از طریق گاوژ دریافت کردند، سپس با یکبار تزریق داخل صفاقی آلوکسان با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، دیابتی شدند.

گروه ۵- موش‌های صحرایی سالم که عصاره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، روزانه به مدت ۲ هفته از طریق گاوژ دریافت کردند، سپس با یکبار تزریق داخل صفاقی آلوکسان با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، دیابتی شدند.

خونگیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی

از حیوانات در سه نوبت، قبل از شروع مطالعه، بعد از تزریق آلوکسان و در پایان دوره، خونگیری به عمل آمد و میزان سرمی گلوکز اندازه‌گیری شد.

قبل از انجام هر خونگیری، حیوانات به مدت ۱۶ ساعت ناشتا نگه داشته شدند. نمونه‌های خون به مدت ۴۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد و به منظور تهیه سرم، در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، قرار داده شدند [۲۸]. گلوکز خون با استفاده از کیت آنزیمی پارس آزمون، اندازه‌گیری شد. علاوه بر اندازه‌گیری گلوکز، در پایان دوره میزان سرمی کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL با استفاده از روش آنزیمی و کیت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور آنالیز آماری داده‌ها، از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده گردید. برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی از آزمون تجزیه و تحلیل

دمای اتاق بر روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت و سپس با استفاده از قیف بوخنر صاف گردید [۲۴]. بر تفاله باقی مانده الکل ۷۰ درصد اضافه شد. عصاره صاف شده مرحله اول و دوم با هم مخلوط گردید و سپس به منظور تغلیظ شدن تا حجم ۱/۳، نمونه در دستگاه روتاری با دمای ۵۰ درجه و دور ۳۵ قرار داده شد [۲۵]. عصاره تغلیظ شده به منظور خشک شدن در آون با دمای ۴۵ درجه قرار داده شد.

حیوانات

بیست و پنج موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن حدود ۲۰۰-۲۵۰ گرم از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان خریداری شد و یک هفته قبل از شروع آزمایش در لانه حیوانات گروه زیست‌شناسی با شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲۲ درجه نگهداری شدند [۵]. آب و رژیم غذایی استاندارد پلیت (غذای موش صحرایی خریداری شده از شرکت خوراک دام پارس اصفهان) در طول آزمایش در دسترس حیوانات قرار گرفت. رعایت اصول اخلاق پژوهشی با کمترین آزار در مورد آن‌ها انجام شد.

القا دیابت در حیوانات (تزریق آلوکسان)

آلوکسان مونوهیدرات با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، در شرایط استریل با نرمال سالین حل شد. تزریق به صورت داخل صفاقی و فقط یکبار بعد از ۱۲ ساعت روزه‌داری، انجام گرفت [۲۶، ۲۷]. علائم دیابت شامل کاهش وزن، پُرنوشی، پُراداری پس از گذشت ۵ روز ظاهر شد. برای اطمینان از دیابتی شدن حیوانات، میزان قند خون آن‌ها با خونگیری دمی و بالانست زدن مستقیم از دم حیوان توسط دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری شد. سطح گلوکز بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان حیوان دیابتی شده در نظر گرفته شد [۲۶].

طرح آزمایش

موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به پنج گروه که هر گروه شامل ۵ موش صحرایی نر، تقسیم شدند. تقسیم‌بندی گروه‌ها به شرح زیر است:

گروه ۱- موش‌های صحرایی کنترل سالم: این گروه در طول مطالعه به جز آب و غذا ترکیب دیگری دریافت نکردند.

واریانس چند متغیری MANOVA استفاده شد ($p < 0/05$). برای تمامی آنالیزها معنی‌دار تلقی گردید.

اثر عصاره بر میزان غلظت سرمی گلوکز در گروه‌های مورد مطالعه

نتایج نشان داد که در نوبت ۱ و ۲، اختلاف میانگین غلظت گلوکز در بین گروه‌های مورد مطالعه معنی‌دار نبوده است. به این معنی که تیمار موش‌های صحرائی سالم با عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه، به مدت ۲ هفته اثری بر میزان طبیعی قند خون نداشته است. در نوبت ۳ یعنی بعد از تزریق آلوکسان، آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که میزان سرمی غلظت گلوکز در گروه مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه با سه دوز ۲۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت، به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این مطالعه در جدول و نمودارهای رسم شده در زیر آورده شده است. جدول شماره ۱ نتایج مربوط به اثر پیشگیری کننده عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر میزان سرمی گلوکز را در حیوانات نشان می‌دهد. نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب اثر این عصاره را بر میزان کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL سرمی نشان می‌دهند.

جدول ۱- مقایسه میانگین غلظت گلوکز در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌های مورد مطالعه (تعداد در هر گروه=۵)			متغیر		
پیشگیری + عصاره با دوز ۵۰۰ (میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن)	پیشگیری + عصاره با دوز ۱۰۰ (میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن)	پیشگیری + عصاره با دوز ۲۰ (میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن)	کنترل دیابتی	کنترل سالم	گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)
۸۹/۲±۱/۹۲	۸۶/۴±۲/۰۷	۸۱±۱/۵۸	۹۵±۱/۴۱	۹۱/۸±۲/۳	نوبت ۱
۸۸/۴±۱/۴۸	۹۰/۲±۱/۹۲	۸۹±۱/۵۸	۹۱/۲±۲/۳۸	۹۰/۸ ±۱/۹	نوبت ۲
۲۱۰/۲±۳۱/۲۷ ^{\$}	۱۵۵±۳۱/۵۳ ^{\$}	۱۷۵±۲۱/۵۴ ^{\$}	۵۵۱/۲۰±۲/۸۵*	۹۰/۴۰±۶/۳	نوبت ۳

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند و $p < 0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

نوبت ۱ = قبل از شروع مطالعه،

نوبت ۲ = بعد از تیمار با عصاره (قبل از تزریق آلوکسان)

نوبت ۳ = پایان مطالعه (بعد از تزریق آلوکسان)

*: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد.

^{\$}: تفاوت معنی‌دار بین سه گروه تیمار شده با عصاره با سه دوز متفاوت.

کیلوگرم وزن بدن رت، با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($p > 0/05$).

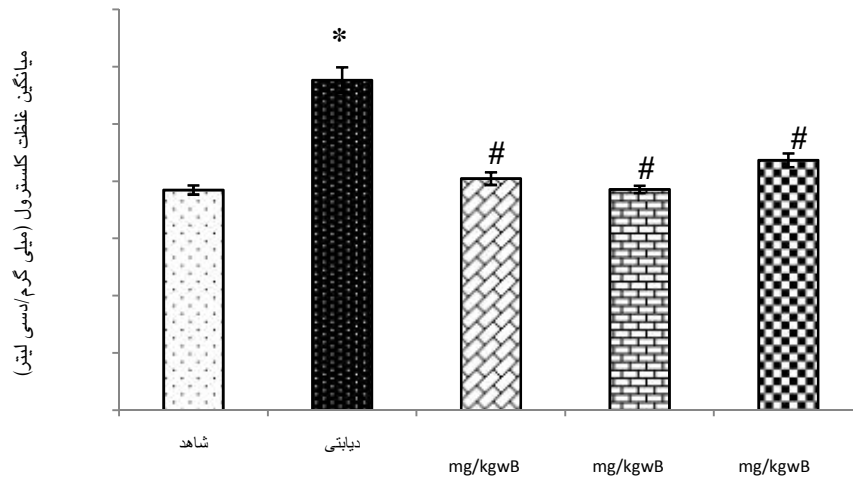
اثر عصاره بر میزان غلظت سرمی تری‌گلیسرید در گروه‌های مورد مطالعه

نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد که غلظت تری‌گلیسرید سرم در گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است و عصاره با هر سه دوز باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) غلظت تری‌گلیسرید سرم در این سه گروه نسبت به گروه دیابتی شده است، از طرف دیگر اختلاف میانگین غلظت تری‌گلیسرید بین گروه تیمار شده با عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت، با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($p > 0/05$).

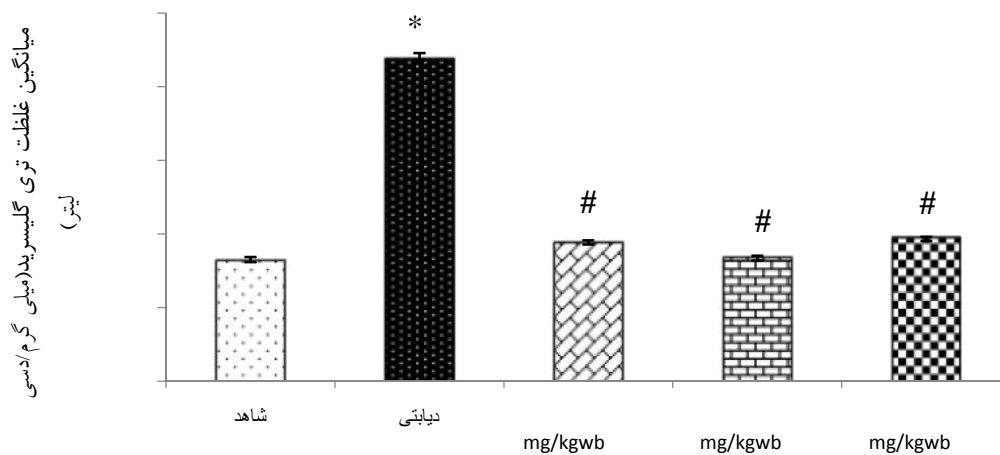
همانطور که در جدول شماره ۱ دیده می‌شود، مقایسه اختلاف میانگین غلظت گلوکز در بین گروه‌های تیمار شده با عصاره، با سه دوز متفاوت، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0/05$).

اثر عصاره بر میزان غلظت سرمی کلسترول در گروه‌های مورد مطالعه

نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که غلظت کلسترول سرم در گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است و عصاره با هر سه دوز باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) غلظت کلسترول سرم در این سه گروه نسبت به گروه دیابتی شده است، از طرف دیگر، اختلاف میانگین غلظت کلسترول بین گروه‌های تیمار شده با عصاره با دوزهای ۲۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر



نمودار ۱- اثر عصاره هیدروالکی بادرنبویه بر میزان غلظت کلسترول در گروه‌های مورد مطالعه (تعداد در هر گروه=۵) مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند و $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. *: تفاوت معنی دار نسبت به گروه شاهد. #: تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابتی.



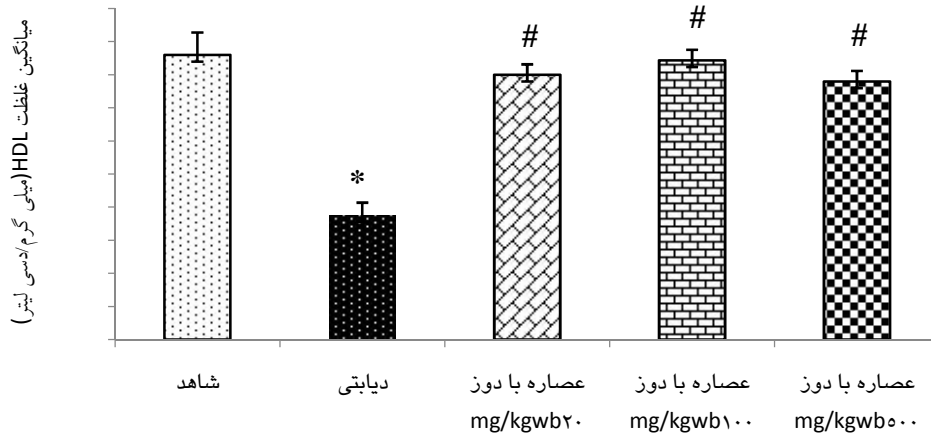
نمودار ۲- اثر عصاره هیدروالکی بادرنبویه بر میزان غلظت تری گلیسرید در گروه‌های مورد مطالعه (تعداد در هر گروه=۵)

مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند و $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. *: تفاوت معنی دار نسبت به گروه شاهد. #: تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابتی.

باعث افزایش معنی دار ($p < 0/05$) غلظت HDL سرم در این سه گروه نسبت به گروه دیابتی شده است، از طرف دیگر، اختلاف میانگین غلظت HDL بین گروه تیمار شده با عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم وزن بدن رت، با گروه شاهد تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهد ($p > 0/05$).

اثر عصاره بر میزان غلظت سرمی HDL در گروه‌های مورد مطالعه:

نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد که غلظت HDL سرم در گروه کنترل دیابتی به طور معنی داری ($p < 0/05$) در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است و عصاره با هر سه دوز



نمودار ۳- اثر عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر میزان غلظت HDL در گروه‌های مورد مطالعه (تعداد در هر گروه=۵).

مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شده است.

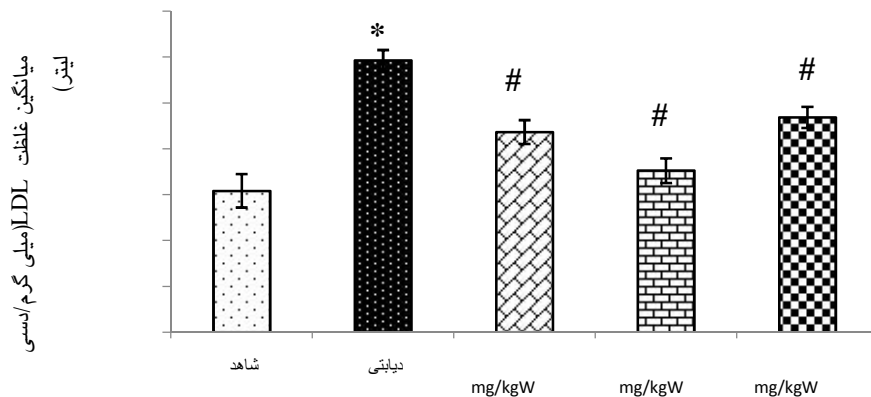
*: تفاوت معنی دار نسبت به گروه شاهد.

#: تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابتی.

سه گروه نسبت به گروه دیابتی شده است؛ از طرف دیگر اختلاف میانگین غلظت LDL بین گروه تیمار شده با عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت، با گروه شاهد تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهد ($p > 0.05$).

اثر عصاره بر میزان غلظت سرمی LDL در گروه‌های مورد مطالعه

نمودار شماره ۴ نشان می‌دهد که غلظت LDL سرم در گروه کنترل دیابتی به طور معنی داری ($p < 0.05$) در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است و عصاره با هر سه دوز باعث کاهش معنی دار ($p < 0.05$) غلظت LDL سرم در این



نمودار ۴- اثر عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر میزان غلظت LDL در گروه‌های مورد مطالعه (تعداد در هر گروه=۵).

مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شده است.

*: تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابتی.

#: تفاوت معنی دار نسبت به گروه شاهد.

گرفت. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان دهنده این مطلب است که، عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه در مقابله با آلوکسان بسیار توانمند عمل نموده و از بروز دیابت نوع اول

بحث

در این تحقیق اثر عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر روند پیشرفت و بروز بیماری دیابت نوع اول مورد بررسی قرار

آلوکسان با تشکیل چرخه اکسیداسیون و احیاء، رادیکال‌های سوپر اکسید و در نهایت گونه‌های فعال اکسیژن را تشکیل می‌دهد. گونه‌های فعال اکسیژن، DNA جزایر لانگرهانس در لوزالمعده را هدف قرار می‌دهند. افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط دیابت عمدتاً به‌علت اثرات دیابت‌زایی آلوکسان است [۳۳].

زمانی که آلوکسان به حیوانات آزمایشگاهی تزریق می‌شود باعث القاء واکنش چند مرحله‌ای در گلوکز خون می‌شود که با تغییرات معکوس در غلظت انسولین پلازما همراه است و پس از آن تغییرات فراساختاری پی‌درپی سلول‌های بتا، سرانجام منجر به مرگ سلول‌های نکروز شده، می‌شوند. فاز اول که دقیقی بعد از تزریق آلوکسان به‌وجود می‌آید، فازگذرای کاهش قندخون است، که حداکثر ۳۰ دقیقه طول می‌کشد. این پاسخ کاهش قندخون، در نتیجه تحریک ترشح گذرای انسولین است که با افزایش غلظت انسولین پلازما تأیید می‌شود. سازوکار اصولی افزایش گذرای انسولین ممکن است به افزایش موقت در دسترس بودن ATP به‌علت مهار فسفوریلاسیون گلوکز از طریق مهار گلوکوکیناز نسبت داده شود [۳۴].

فاز دوم یک ساعت بعد از تزریق آلوکسان به‌وجود می‌آید که منجر به افزایش غلظت گلوکز خون می‌شود. علاوه بر این غلظت انسولین پلازما در همان زمان به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. این افزایش قند خون اولیه بعد از اولین تماس سلول‌های بتا با سم به‌وجود می‌آید، این فاز افزایش قندخون به‌مدت ۲ تا ۴ ساعت طول می‌کشد که با کاهش غلظت انسولین پلازما همراه است. این تغییرات در نتیجه مهار ترشح انسولین از سلول‌های بتای لوزالمعده به‌علت سمیت این سلول‌ها است.

فاز سوم، فاز کاهش دوباره قندخون است که به ۴ تا ۸ ساعت بعد از تزریق اشاره دارد و برای چند ساعت طول می‌کشد. کاهش قندخون گذرا و شدید موجب پارگی گرانول‌های ترشحی و غشاء سلولی می‌شود. علاوه بر این دیگر اندام‌های زیر سلولی شامل سیستم‌های شبکه آندوپلاسمی خشن و دستگاه گلژی نیز پاره می‌شوند. همچنین غشاهای داخلی و خارجی میتوکندری در این مرحله یکپارچگی ساختار خود را از دست می‌دهند. این تغییرات غیرقابل برگشت‌اند و

در رت‌ها جلوگیری می‌کند. چنانچه مقایسه میانگین غلظت سرمی گلوکز در این سه گروه تیمار شده با عصاره با گروه دیابتی که فقط آلوکسان را دریافت نمودند، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). این نتایج بر این امر دلالت دارد که، عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه با اثر حفاظتی بر سلول‌های بتا در جزایر لوزالمعده مانع از آسیب شدید رادیکال‌های آلوکسان به این سلول‌ها می‌گردد. همچنین نتایج حاکی از این است که عصاره، غلظت سایر فاکتورهای سرمی مانند کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL را نسبت به گروه دیابتی به‌صورت معنی‌داری کاهش داد. آنالیز آماری میانگین غلظت سرمی HDL نشان داد که عصاره به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان HDL در حد گروه کنترل می‌شود. مقایسه بین عصاره با دوزهای ۲۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن رت نشان داد که عصاره با دوز ۱۰۰ نسبت به دوزهای دیگر بر میزان قندخون و سایر فاکتورهای بیوشیمیایی مؤثرتر بوده است.

طبق بررسی‌های انجام شده، آلوکسان و استرپتوزوسین داروهایی هستند که به‌طور انتخابی سلول‌های بتای پانکراس را تخریب می‌نمایند، بنابراین به‌عنوان یک داروی مناسب برای ایجاد دیابت تجربی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۹]. به‌علت تشابهات ساختمانی آن‌ها با گلوکز، این مواد از طرق گیرنده گلوکز به سلول‌های بتا متصل شده یا داخل این سلول‌ها می‌شوند.

آلوکسان از مشتقات اوره است که باعث از بین رفتن انتخابی سلول‌های بتای جزایر لوزالمعده می‌شود. علاوه بر این به‌طور گسترده‌ای برای تولید دیابت تجربی در حیواناتی مانند خرگوش، موش صحرائی، موش سوری و سگ، با درجات مختلف از شدت بیماری و توسط دوزهای مختلفی از آلوکسان مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۰، ۳۱].

عمل سمی آلوکسان بر سلول‌های بتای لوزالمعده شامل اکسیداسیون سولفیدریل (گروه‌های SH-)، مهار آنزیم گلوکوکیناز، تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در هموستاز کلسیم داخل سلولی است. سازوکار زمینه‌ای اثر آلوکسان جذب بالای انتخابی این ترکیب به‌علت شباهت ساختاری به گلوکز و همچنین سازوکار جذب آن توسط سلول‌های بتای لوزالمعده بسیار مؤثر است [۳۲].

بادرنجبویه حاوی مقادیر زیادی از فلاونوئیدها است که ممکن است از آسیب اکسیداتیو جلوگیری کنند. فلاونوئیدها ترکیباتی هستند که انواع فعالیت‌های بیوشیمیایی و دارویی از جمله اثرات کاهش چربی خون، خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظت از قلب را دارا می‌باشند. اثرات کاهش چربی خون در نتیجه عصاره بادرنجبویه با محتوای فلاونوئیدی این گیاه مرتبط است [۳۷].

نتیجه‌گیری

مطالعات پیشین حاکی از پیشرفت دیابت و عوارض ناشی از آن در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو هستند. در دیابت نوع دو، استرس اکسیداتیو موجب کاهش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش میزان نیتریک اکساید پلازما می‌گردد [۴۰، ۳۹]. اخیراً سازمان جهانی بهداشت پیشنهاد داده است که عوامل کاهش دهنده قندخون با منشأ گیاهی مورد تحقیق و بررسی قرار گیرند، به‌علت اینکه گیاهان مورد استفاده در طب سنتی از عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی برخوردار هستند [۱۱].

مطالعات انجام شده، نشان داده است که ترکیبات پلی‌فنلی، تری‌مریک و بعضی از فلاونوئیدهای موجود در برگ‌های بادرنجبویه، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و رادیکال‌های آزاد را پاکسازی می‌کنند که این امر ممکن است از آپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری کند. فعالیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی اسانس بادرنجبویه گزارش شده است [۱۷، ۳۸].

بنابراین در بیماران دیابتی، آنتی‌اکسیدان‌ها به‌واسطه اثر بر گلیکوزیلاسیون پروتئین و حساسیت به انسولین، دارای اثرات مفیدی بر کنترل فرآیندهای متابولیک هستند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی و گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان که در انجام این پژوهش به ما یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌شود. هزینه‌های این مطالعه توسط دانشگاه اصفهان تامین شده است.

مشخصه‌ای برای مرگ سلول‌های نکروز شده جزایر لوزالمعده می‌باشند.

فاز ۴، که آخرین فاز از پاسخ گلوکز است و فاز نهایی افزایش قندخون است، در طی آن تغییر شکل و از دست دادن یکپارچگی سلول‌های بتا به‌طور کامل بین ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد از تزریق آلوکسان اتفاق می‌افتد [۳۵].

از طرف دیگر در رت‌های دیابتی شده با آلوکسان، افزایش سطح گلوکز خون می‌تواند به‌طور غیر مستقیم موجب افزایش سطح کلسترول، تری‌گلیسرید، VLDL، LDL، سرم و کاهش سطح HDL منجر شود [۳۶]. که این خود تا حدودی توجه کننده تغییرات نامطلوب سطح چربی‌های سرم در حیوانات دیابتی در این تحقیق است. افزایش در سطح کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL در رت‌های دیابتی شده عمدتاً به‌دلیل افزایش تحرک اسیدهای چرب آزاد از ذخایر محیطی است.

تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن در بیماری دیابت می‌تواند منجر به مشکلات جدی از جمله بیماری‌های قلبی عروقی، نارسایی کبد و کلیه‌ها، از دست دادن بینایی و آسیب اعصاب شود [۱۹]. بنابراین درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها یکی از استراتژی‌ها برای درمان دیابت است. بسیاری از عصاره‌های گیاهی یا مشتقات آن‌ها که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند، برای درمان دیابت و دیگر اختلالات متابولیک مفید هستند [۲۰]. تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و ناکافی بودن سازوکار دفاعی آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران دیابتی و همچنین مدل‌های تجربی دیابت، به‌خوبی دیده شده است [۲۱].

در نتیجه مطالعاتی که بر روی گیاه بادرنجبویه صورت گرفته مشخص شده است که، برگ‌های این گیاه غنی از ترکیبات پلی‌فنلی مانند اسید رزماریک، ترکیبات تری‌مریک و بعضی از فلاونوئیدها هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را پاکسازی کرده و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که این امر ممکن است از مرگ برنامه‌ریزی سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری کند [۱۷، ۳۷، ۳۸].

مطالعات انجام شده بر این گیاه نشان داده است که، روغن‌های مهم مشتق شده از بادرنجبویه به‌علت بالا بودن ترکیبات فنلی و توکوفرول‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی روغن بادرنجبویه قبل از این گزارش شده است [۳۸].

1. Alruhaili M. Type 1 diabetes in the tropics: the protective effects of environmental factors. *African Journal of Diabetes Medicine* 2010; 18(2).
2. Liu F, Xie M, Chen D, Li J, & Ding W. Effect of (dipic-Cl) on Lipid Metabolism Disorders in the Liver of STZ-Induced Diabetic Rats. *Journal of Diabetes Research* 2013.
3. Sato KK, Hayashi T, Harita N, Yoneda T, Nakamura Y, Endo G, Kambe H. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Journal Diabetes Care* 2013; 36(1): 67-74.
4. Wei D, Li M, & Ding W. Effect of vanadate on gene expression of the insulin signaling pathway in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 2007; 12(8): 1265-1273.
5. Adaramoye OA. Antidiabetic effect of kolaviron, a biflavonoid complex isolated from *Garcinia kola* seeds, in Wistar rats. *African health sciences* 2013; 12(4): 498-506.
6. Feitosa AC, Feitosa-Filho GS, Freitas FR., Wajchenberg BL, & Maranhão RC. Lipoprotein metabolism in patients with type 1 diabetes under intensive insulin treatment. *Lipids Health Dis* 2013; 11: 12-15.
7. Guy J, Ogden L, Wadwa RP, Hamman RF, Mayer-Davis EJ, Liese AD, & Dabelea D. Lipid and Lipoprotein Profiles in Youth With and Without Type 1 Diabetes The SEARCH for Diabetes in Youth Case-Control Study. *Diabetes Care* 2009; 32(3): 416-420.
8. Movahedian A, Zolfaghari B, Sajjadi SE, & Moknatjou R. Antihyperlipidemic effect of peucedanumpastinacifolium extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinics* 2010; 65(6): 629-633.
9. Vergès Bruno. "Lipid disorders in type 1 diabetes." *Diabetes & metabolism* 2009; 35(5): 353-360.
10. Grauslund J, Jørgensen TM, Nybo M, Green A, Rasmussen LM, & Sjølie AK. Risk factors for mortality and ischemic heart disease in patients with long-term type 1 diabetes. *Journal of diabetes and its complications*, 2010; 24(4): 223-228.
11. Cheng D, Liang B, & Li Y. Antihyperglycemic effect of Ginkgo biloba extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *BioMed research international* 2013: 162724.
12. Basar SN, & Zaman R. An Overview of Badranjboya (Melissa officinalis). *International Research Journal of Biological Sciences* 2013; Vol. 2(12): 107-109.
13. Adinee J, Piri K, & Karami O. Essential Oil Component in Flower of Lemon Balm (Melissa officinalisL). *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2008; 4(3): 277.
14. Aharizad S, Rahimi MH, Moghadam M, & Mohebalipour N. Study of genetic diversity in lemon balm (*Melissa officinalis* l.) populations based on morphological traits and essential oils content. *Annals Biological Res* 2013; 3(12): 5748-5753.
15. Emamghoreishi M, & Talebianpour MS. Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 17(1): 42-47.
16. Guginski G, Luiz AP, Silva MD, Massaro M, Martins DF, Chaves J, & Santos AR. Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2009; 93(1): 10-16.
17. Chung MJ, Cho SY, Bhuiyan MJH, Kim KH, & Lee SJ. Anti-diabetic effects of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil on glucose- and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. *British journal of nutrition* 2010; 104(02): 180-188.
18. Neri S, Calvagno S, Mauceri B, Misseri M, Tsami A, Vecchio C, & Signorelli SS. Effects of antioxidants on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *European journal of nutrition* 2010; 49(7): 409-416.
19. Nyenwe EA, Jerkins TW, Umpierrez GE, & Kitabchi AE. Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2011; 60(1): 1-23.
20. Samad A, Shams MS, Ullah Z, Wais M, Nazish I, Sultana Y, & Aqil M. Status of herbal medicines in the treatment of diabetes: a review. *Current diabetes reviews* 2009; 5(2): 102-111.
21. K dziora-Kornatowska K, Szewczyk-Golec K, Kozakiewicz M, Pawluk H, Czuczajko J, Kornatowski T, & K dziora J. Melatonin improves oxidative stress parameters measured in the blood of elderly type 2 diabetic patients. *Journal of pineal research* 2009; 46(3): 333-337.
22. Kasetti RB, Rajasekhar MD, Kondeti VK, Fatima SS, Kumar EG. T, Swapna S, & Rao, CA. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of methanol: water (4: 1) fraction isolated from aqueous extract of *Syzygium alternifolium* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food and chemical toxicology* 2010; 48(4): 1078-1084.
23. Ramesh B, Karuna R, Sreenivasa RS, Haritha, K, Sai MD, Sasis BR. B, & Saralakumari D. Effect of Commiphoramukul gum resin on hepatic marker enzymes, lipid peroxidation and antioxidants status in pancreas and heart of streptozotocin induced diabetic rats. *Asian*

- Pacific journal of tropical biomedicine* 2012; 2(11): 895-900.
24. Yessoufou A, Gbenou J, Grissa O, Hichami A, Simonin AM, Tabka Z, et al. Anti-hyperglycemic effects of three medicinal plants in diabetic pregnancy: modulation of T cell proliferation. *Journal BMC Complementary And Alternative Medicine*. 2013; 13(1): 77.
 25. El-Demerdash FM, Yousef MI, El-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2005; 43(1): 57-63.
 26. Lachin T, & Reza H. Anti diabetic effect of cherries in alloxan induced diabetic rats. *Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery* 2012; 6(1): 67-72.
 27. Asgary S, Rahimi P, Mahzouni P, & Madani H. Antidiabetic effect of hydroalcoholic extract of *Carthamus tinctorius* L. in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 2012; 17(4), 386.
 28. Quanhong LI, Caili F, Yukui R, Guanghui H, & Tongyi C. Effects of protein-bound polysaccharide isolated from pumpkin on insulin in diabetic rats. *Plant Foods for Human Nutrition* 2005; 60(1): 13-16.
 29. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008; 51(2): 216-226.
 30. Etuk EU. Animals models for studying diabetes mellitus. *AgricBiol JN Am* 2010; 1(2): 130-134.
 31. Iranloye BO, Arikawe AP, Rotimi G, & Sogbade AO. Anti-diabetic and anti-oxidant effects of *Zingiber Officinale* on alloxan-induced and insulin-resistant diabetic male rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 2013; 26(1).
 32. Dhanesha N, Joharapurkar A, Shah G, Dhote, V, Kshirsagar S, Bahekar R, & Jain M. Exendin-4 ameliorates diabetic symptoms through activation of glucokinase. *Journal of diabetes* 2012; 4(4):369-377.
 33. Etuk EU. Animals models for studying diabetes mellitus. *Journal AgricBiol JN Am* 2010; 1(2): 130-134.
 34. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008; 51(2):216-226.
 35. Rohilla A, & Ali S. Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *Int J Res Pharma Biomedical Sci* 2012; 3: 819-21.
 36. Booya F, Bandarian F, Larijani B. Potential Risk Factor Diabetic Neuropathy. *Journal BMC Neurology* 2005; 5(24):1-5.
 37. Bolkent S, Yanardag R, Karabulut-Bulan O, Yesilyaprak B. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: A morphological and biochemical study. *Journal Of Ethnopharmacology* 2005; 99(3): 391-398.
 38. Bayat M, Tameh AA, Ghahremani MH, Akbari M, Mehr SE, Khanavi M, & Hassanzadeh G. Neuroprotective properties of *Melissa officinalis* after hypoxic-ischemic injury both in vitro and in vivo. *Daru* 2012; 20(1): 42.
 39. Friederich M, Hansell P, & Palm F. Diabetes, oxidative stress, nitric oxide and mitochondria function. *Current diabetes reviews* 2009; 5(2): 120-144.
 40. Giacco F, & Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research* 2010; 107(9): 1058-1070.

EFFECT EXTRACT OF *MELISSA OFFICINAL IS* ON BLOOD LIPIDS AND LIPOPROTEINS AND THE PREVENTION OF DIABETES IN RATS

Sedighe khodsook^{1*}, Seyed Jamal Moshtaghian²

1. Department of Biology, Faculty Sciences, The University of Isfahan, Isfahan, Iran.

2. Department of Biology, School of Science, The University of Isfahan, Isfahan, Iran

ABSTRACT

Background: plants have been used in treatment of diabetes mellitus (DM) all over the world for centuries. Studies have indicated that, numerous classes of chemical compounds found in plants are potential effective in the treatment of diabetes. Lemon balm (*Melissa officinal is*) is a member of Lamiaceae family. In this study, were studied the effect of *Melissa officinal is* hydroalcoholic extracts in the prevention of diabetes and its effect on serum lipids and lipoproteins in rats.

Methods: In this study 25 male rats, weighing 200-250 grams were semi-randomly divided into 5 groups of 5 each. Group 1 (control), group 2 (diabetic), and groups 3, 4 and 5, respectively extract with doses 20, 100 and 500 mg/Kg/BW, for a period of two weeks every day through were gavaged and then diabetes was induced by way of intra peritoneal injection of alloxan at a dose 120 mg/kg WB. Blood from rats was performed in order to measure the serum concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, HDL and LDL.

Results: The results indicated a significant decrease ($P < .05$) in levels of blood sugar, cholesterol, triglycerides and LDL in rats treated with the extract of *Melissa officinal is*. In addition, significant increase ($P < .05$) in HDL level were observed in treating rats in comparison to the diabetic group.

Conclusion: The results of this study indicated that the *Melissa officinal is* extract may be used effectively in preventing, controlling and attenuating the complications of DM. This effect can be due to the presence of flavonoids and their antioxidant features in these plant.

Keywords: Diabetes, Alloxan monohydrate, Hydro alcoholic extract, *Melissa Officinal is*, Lipid profile

* Isfahan, Hezarjarib Avenue, The University of Isfahan 81746-73441, Faculty of Science, Department of Biology, Phone: 031-7932465. Fax: 031-7932465. Email: khodsooz_s@yahoo.com