بررسی اثر ضدهیپرگلیسمی حاد و مزمن عصاره متانلی مورپرزو (*Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand.) در موش صحرایی

میترا مهربانی[1]*، محمودرضا حیدری[2]، مهرناز مهربانی[3]

۱- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات فارماسوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲- استاد، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۳- دستیار فارماکولوژی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: کرمان، ابتدای بلوار هفت‌باغ، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان
صندوق‌پستی: ٤٩٣ - ٧٦١٧٥، تلفن: ٣٢٠٥٠١٩ (٠٣٤١)، نمابر: ٣٢٠٥٠٠٣ (٠٣٤١)
پست الکترونیک: mmehrabani@hotmail.com

تاریخ دریافت: ٨٧/٤/٦ **تاریخ تصویب:** ٨٩/٣/٢٢

چکیده

مقدمه: گیاه مورپرزو[1] (از خانواده نعناع) در درمان دیابت شیرین در طب سنتی منطقه کرمان استفاده می‌شود. اثرات ضددیابتی گونه‌های دیگری از جنس *Salvia* نیز گزارش شده است.

هدف: در تحقیق حاضر اثر ضدهیپرگلیسمی این گیاه بررسی شد.

روش بررسی: یازده گروه هفت‌تایی موش‌های صحرایی نر سفید (شش گروه سالم و پنج گروه دیابتی) استفاده شد. موش‌ها توسط دوز ٦٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم از استرپتوزوسین دیابتی شدند. دوزهای ٥٠، ١٠٠، ٢٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره متانلی کاملاً خشک شده برای یک روز و دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای ١٢ روز به شکل داخل صفاقی[2] به کار رفت. در انتها پانکراس، کبد، کلیه و طحال، تحت مطالعات هیستوپاتولوژیک قرار گرفت. مطالعات آماری با روش ANOVA با Tukey Post hoc انجام شد.

نتایج: دوزهای مختلف از عصاره متانلی گیاه، به طور معنی‌داری باعث پایین آوردن قند خون حیوانات دیابتی شد که بیشترین اثر مربوط به دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره بود ($p<$ ٠/٠٠١). تجویز عصاره متانلی گیاه *S. mirzayanii* به مدت ١٢ روز به حیوانات دیابتی شده اثر پایین آورندگی قند خون معنی‌داری با دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایجاد نمود ($p<$ ٠/٠٠١). از سوی دیگر مطالعات هیستوپاتولوژیک نشان داد که عصاره باعث ترمیم و پرخون شدن بافت پانکراس حیوانات دیابتی، شده و این تغییر در رنگ‌آمیزی لام‌های تهیه شده از بافت‌های پانکراس حیوانات به خوبی مشهود بود.

نتیجه‌گیری: عصاره *S. mirzayanii* باعث پایین آوردن قند خون حیوانات دیابتی شده شد و اثر آن در ترمیم بافت آسیب‌دیده پانکراس انگیزه‌ای است که این گیاه را جهت مطالعات تکمیلی و ادامه تحقیقات در زمینه داروهای ضددیابت با منشای گیاهی، نامزد مناسبی می‌کند.

گل‌واژگان: *Salvia mirzayanii*، دیابت، استرپتوزوسین، موش صحرایی، عصاره متانلی

[1] *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand.

[2] IP

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

مقدمه

دیابت شیرین شایع‌ترین بیماری غدد اندوکرین است که با اختلالات متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها همراه است [۱]. امروزه در درمان دیابت از داروهای ضددیابت زیادی استفاده می‌شود که کارایی نسبتاً خوبی دارند، اما عوارض جانبی این داروها در مصرف مداوم این گونه داروها بروز می‌کند. به همین علت گرایش به سوی داروهای گیاهی که گفته می‌شود عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند روز به روز گسترش می‌یابد. تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در زمینه داروهای گیاهی ضددیابت صورت گرفته و گیاهان متعددی به عنوان پایین آورنده قند خون معرفی شده‌اند [۳،٤،٥،٦،١،٢].

گیاهان امروزه برای یافتن ترکیبات دارویی راهنما با فعالیت بیولوژیک موضوع تحقیقات بسیاری هستند. اطلاعات طب سنتی در سراسر دنیا نشان می‌دهد حدود ۸۰۰ گیاه برای درمان دیابت به کار می‌روند [۷، ۲]. در این میان تحقیقات روی برخی از گیاهان خانواده نعنا مانند کلپوره [1] و مریم گلی طبی [2] کاملاً اثر ضددیابتی آنها را اثبات نموده است [۸ ۷].

گیاه *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. از خانواده نعناع [3] گیاهی بومی ایران بوده، که در طب سنتی استان کرمان با نام محلی مورپرزو به عنوان ضدقند خون و ضداسپاسم مورد استفاده قرار می‌گیرد. نام دیگر این گیاه مریم‌گلی ایرانی می‌باشد [۹]. تاکنون تحقیقی مبنی بر اثر پایین آورندگی قند خون این گیاه در منابع علمی ذکر نشده است. این گیاه دارای ۲ – ۱/۵ درصد اسانس می‌باشد که اجزای اصلی آن عبارتند از: لینالیل استات و آلفا ترپینئول [۱۰،۱۱]. ترکیبات موجود در اسانس و عصاره این گیاه اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی از خود نشان داده‌اند [۹]. علاوه‌بر اسانس، این گیاه دارای فلاونوئید، تانن و ترپنوئید می‌باشد [۱۲،۱۳].

علاوه بر مریم گلی طبی، از سایر گیاهان جنس *Salvia* که اثر ضددیابتی آنها موضوع تحقیقات متعدد قرار گرفته است می‌توان به *Salvia lavandulifolia*، *Salvia furticosa* و *Salvia aegyptica* اشاره کرد [۷،۱٤،۱٥،۱٦،۱۷].

[1] *Teucrum polium*
[2] *Salvia officinale*
[3] Lamiaceae

در این تحقیق از عصاره تام متانلی گیاه مورپرزو به صورت تک دوز و دوزهای متعدد به ترتیب جهت بررسی اثرات حاد و مزمن بر روی قند خون موش‌های صحرایی نر سالم و دیابتی شده با استرپتوزوسین استفاده شد. اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره گیاه نیز بر روی پانکراس و سایر اندام حیاتی حیوانات شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این تحقیق از موش‌های صحرایی سفید نر آزمایشگاهی از نژاد Wistar با وزن ۲۰۰ – ۱۸۰ گرم استفاده شد. آنها با یک رژیم غذایی استاندارد تغذیه شدند [٤]. رژیم غذایی مورد استفاده عبارت بود از غذای آماده، ساخت کارخانه خوراک دام پارس و آب تصفیه شده شهری. حیوانات از سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برخوردار بودند. نگهداری حیوانات به طور جمعی بوده و حداقل یک ساعت قبل از شروع آزمایش در محفظه انفرادی جای داده شدند. دمای محیط بین ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد بوده و از هر موش فقط در یک آزمایش استفاده شد. ۱۲ ساعت قبل از اندازه‌گیری قند سرم، غذا از دسترس حیوانات دور می‌شد [۱،٥]. در جلسه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان مورخ ۸۷/٦/۱۲ موضوع و روش اجرای این تحقیق از نظر اخلاق پژوهش تأیید شد.

مشخصات گیاه

سرشاخه گلدار گیاه مورپرزو از منطقه اسفندقه استان کرمان در فصل بهار ۱۳۸٦ جمع‌آوری شد. پس از تهیه نمونه هرباریومی از آن، توسط گیاه‌شناس نامگذاری و در هرباریوم دانشکده داروسازی کرمان با شماره ۱۰۰۳ نگهداری شد.

روش عصاره‌گیری

۲۰۰ گرم از گیاه آسیاب شده به مدت ٤۸ ساعت برای دو بار با متانل به روش خیساندن عصاره‌گیری شد و عصاره حاصل بعد از تغلیظ به وسیله دستگاه تقطیر در خلأ چرخان در حرارت ٤۰ درجه سانتی‌گراد در آون ٤۰ درجه سانتی‌گراد

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

خشک شد. وزن خشک عصاره با روش ذکر شده ٤٠ درصد تعیین شد.

تهیه محلول تزریقی از عصاره گیاه

عصاره متانلی تهیه شده با کمک ١ درصد حجم نهایی از دی‌اتیل اتر در نرمال سالین حل شد [١٢]. دوزهای ٥٠، ١٠٠، ٢٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم از وزن بدن موش‌ها مورد استفاده قرار گرفت و دوز ٤٠٠ mg/kg/day با توجه به اثرات بهتر برای ١٢ روز ادامه یافت. دوزها بر اساس مطالعه پایلوت قبلی تعیین شدند. تزریق به روش داخل صفاقی با حجم حداکثر ١٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام گرفت [٧،١٨]. در طب سنتی گیاه به صورت گیاه خشک و به شکل خوراکی مصرف می‌شود، شبیه‌ترین روش مصرف به این روش گاواژ عصاره تام می‌باشد ولی استرس بالایی به خصوص در درازمدت تولید می‌کند. در تزریق IP هر چند که عبور اولیه کبدی تا حدی حذف می‌شود ولی استرس ناشی از گاواژ را نداشته سهولت بیشتری دارد [١٨].

نحوه دیابتی کردن حیوانات

در این تحقیق از استرپتوزوسین به عنوان عامل دیابتی‌کننده حیوانات استفاده شده برای این منظور از دوز ٦٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم از استرپتوزوسین در بافر سیترات سدیم با pH= ٤/٥ استفاده شد. ٢٤ ساعت پس از تزریق داخل صفاقی محلول استرپتوزوسین در صورتی که قند خون حیوانات از ٢٥٠ mg/dl بالاتر می‌رفت، بر اساس مقالات موجود این حیوانات به عنوان دیابتی در نظر گرفته می‌شوند و حیوانات مورد آزمایش در گروه حیوانات دیابتی قرار می‌گرفتند [١٩، ٣].

نحوه خونگیری و اندازه‌گیری قند خون حیوانات

خونگیری با قطع انتهای دم انجام شد که لازمه آن بیهوش کردن حیوان به طور خفیف بود. برای بیهوش کردن حیوانات، پنبه آغشته به دی‌اتیل‌اتر در مقابل بینی حیوان باعث بیهوش شدن سریع حیوان می‌شد. بیهوشی حیوان با این روش عمیق نبوده و تنها جهت سهولت انجام خونگیری از دم حیوان انجام گرفت. به دلیل تکرار خونگیری می‌بایست از بیهوش‌کننده‌ای استفاده می‌شد که کمترین تأثیر درازمدت را در سیستم متابولیک بدن حیوان می‌داشت و سریع از بدن حذف می‌شد به این دلیل اتر ارجح بود [١٨]. پس از بیهوش شدن حیوان، یک قطره از خون انتهای دم روی نوار اندازه‌گیری قند خون دستگاه گلوکومتر مدل Glucocare ریخته شد و سه بار متوالی قند خون ثبت و متوسط گرفته می‌شد [٢،٥].

زمان خونگیری در حیوانات به منظور اثر کوتاه مدت و بلند مدت عصاره روی قند خون به دو صورت برنامه‌ریزی شده بود. در زمان‌های ٠، ١، ٢، ٣ و ٢٤ ساعت بعد از تجویز عصاره برای تعیین اثر کوتاه مدت عصاره، خونگیری و اندازه‌گیری قند خون انجام گرفت و دوباره در زمان ٢٤ ساعت عصاره تجویز شد و در روزهای دوم، سوم، چهارم تا دوازدهم درست قبل از تجویز دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره، قند خون حیوانات ثبت شد در حالی که هر روز عصاره با دوز اولیه برای حیوانات تجویز می‌شد، بدین‌صورت اثر تجویز بلندمدت عصاره روی قند خون حیوانات بررسی شد [١،١٥].

گروه‌های مورد آزمایش

در مجموع ١١ گروه ٧ تایی موش صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. که به طور کلی شامل:

الف- حیوانات سالمی که نرمال سالین و دوزهای ٥٠، ١٠٠، ٢٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند و تنها گروه ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نرمال سالین برای ١٢ روز با دوز روزانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ب- حیوانات دیابتی که نرمال سالین و دوزهای ٥٠، ١٠٠، ٢٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند و تنها گروه ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نرمال سالین برای ١٢ روز با دوز روزانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ج- حیوانات سالم که تنها قند خون آنها همزمان با سایر گروه‌ها اندازه‌گیری شد.

روش بررسی هیستوپاتولوژیک

با استفاده از رنگ‌آمیزی معمولی بافت‌ها با هماتوکسیلین – ائوزین (H/E) بررسی‌های هیستوپاتولوژیک روی پانکراس، کبد،

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

کلیه و طحال ثابت شده در محلول فرمالین ۱۰ درصد انجام شد. بررسی کبد، کلیه و طحال تنها در مورد دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای بررسی سلامت دوز به کار رفته انجام شد.

محاسبات آماری

نتایج به دست آمده از غلظت گلوکز خون از نمونه‌های خونی بعد از تجویز عصاره گیاهی و کنترل منفی به صورت میانگین ± خطای استاندارد معیار (Mean±SEM) در ۷ عدد موش صحرایی نر ثبت شد. محاسبه آماری جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های آزمایش در ساعات مشخص شده ۱، ۲، ۳ و ٢٤ در تمام دوزها و از روز اول تا ۱۲ تنها در مورد دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد نرمال سالین به روش ANOVA با Tukey Post hoc انجام گرفت و اختلاف با p<۰/۰۱ معنی‌دار در نظر گرفته شد [۱،۷].

نتایج

الف- قند خون

۱- دیابت ناشی از تزریق دوز ٦٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوسین در موش‌های صحرایی

قند خون موش‌های صحرایی سالم پس از تزریق دوز ٦٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم از استرپتوزوسین با افزایش معنی‌داری روبرو شد. این افزایش قند خون بعد از ٢٤ ساعت از تزریق IP استرپتوزوسین، ایجاد شد. حیواناتی که در آنها قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

۲- اثر حامل عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* بر قند خون موش‌های صحرایی دیابتی

برای مشخص نمودن اثر حامل، از نرمال سالین و ۱ درصد دی‌اتیل‌اتر، به میزان ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به صورت IP بر روی موش‌های صحرایی دیابتی استفاده شد. قند خون حیوانات ۱، ۲، ۳ و ٢٤ ساعت، بعد از تزریق اندازه‌گیری شد. حامل اثر معنی‌داری روی قند خون حیوانات ایجاد نکرده است.

۳- اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* بر روی قند خون موش‌های صحرایی سالم

به منظور بررسی اثر هیپوگلیسمی عصاره گیاه، در موش‌های سالم، عصاره گیاهی با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤٠٠ میلی‌گرم به حیوانات غیردیابتی سالم به صورت IP تزریق شد، اما این تجویز باعث تغییر معنی‌داری در قند خون حیوانات تحت درمان در مقایسه با گروه شاهد نشد (نمودار شماره ۱).

٤- اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* بر روی قند خون موش‌های صحرایی دیابتی

طبق نمودار شماره ۱ و ۲، تجویز عصاره باعث پایین آوردن قند خون حیوانات شده که البته موثرترین دوزهای عصاره ۲۰۰ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. بهترین زمان کاهش قند خون حیوانات ساعات دوم و سوم پس از تجویز عصاره بود که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری (p< ۰/۰۰۱) با گروه شاهد ایجاد می‌نمود. قند خون حیوانات ٢٤ ساعت پس از تجویز عصاره نیز تغییر معنی‌داری داشت که البته در مورد دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم وضوح بیشتری داشت (p<۰/۰۰۱).

۵- اثر تجویز دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* روی قند خون موش‌های صحرایی دیابتی در طی ۱۲ روز

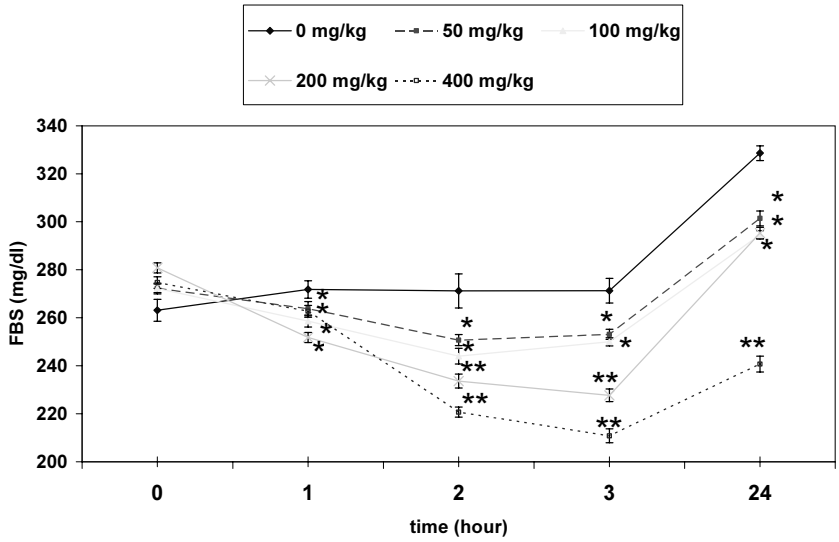
طبق نمودار شماره ۲ تجویز دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* به صورت تزریق IP در طی ۱۲ روز به حیوانات دیابتی شده با استرپتوزوسین، باعث کاهش معنی‌داری از لحاظ آماری در قند خون حیوانات نسبت به گروه کنترل شد (p< ۰/۰۱).

٦- اثر تجویز دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه *Saliva mirzayanii* روی قند خون موش‌های صحرایی سالم در طی ۱۲ روز

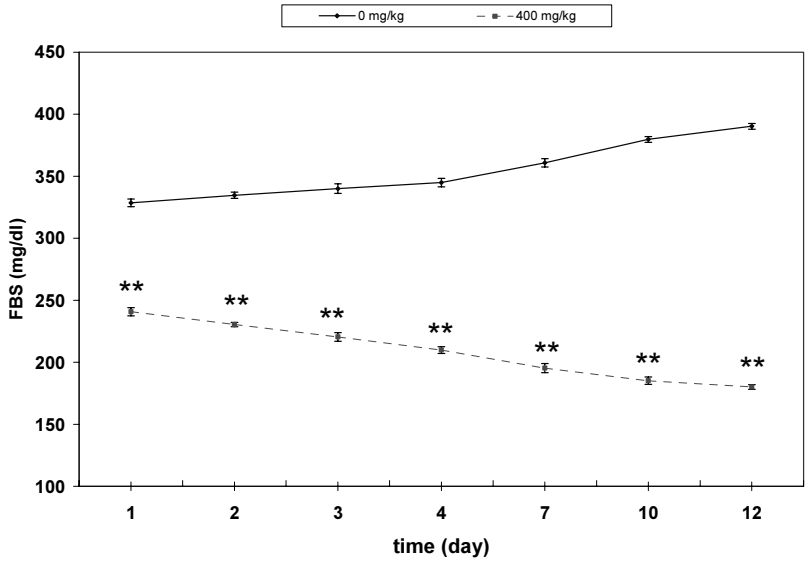
عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* با دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

کیلوگرم در طی ۱۲ روز به حیوانات غیردیابتی به صورت IP تزریق گردید. اما همانطور که در نمودار شماره ۳ دیده می‌شود، این عصاره باعث تغییر معنی‌داری روی قند خون حیوانات سالم از لحاظ آماری نشد (مقایسه بین گروه سالم شاهد و سالم دریافت‌کننده دوز).



نمودار شماره ۱- اثر دوزهای مختلف عصاره متانلی گیاه *Salvia mirzayanii* بر قندخون ناشتا موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین (تزریق IP)، هر نقطه نمایانگر Mean±SEM (بر اساس mg/dl) قندخون در ۷ حیوان در زمان مشخص می‌باشد. مقایسه آماری در هر ساعت تعیین شده بین گروه موردنظر و شاهد منفی انجام گرفته است. *۰/۰۱ >p، اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، **۰/۰۰۱ >p، اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

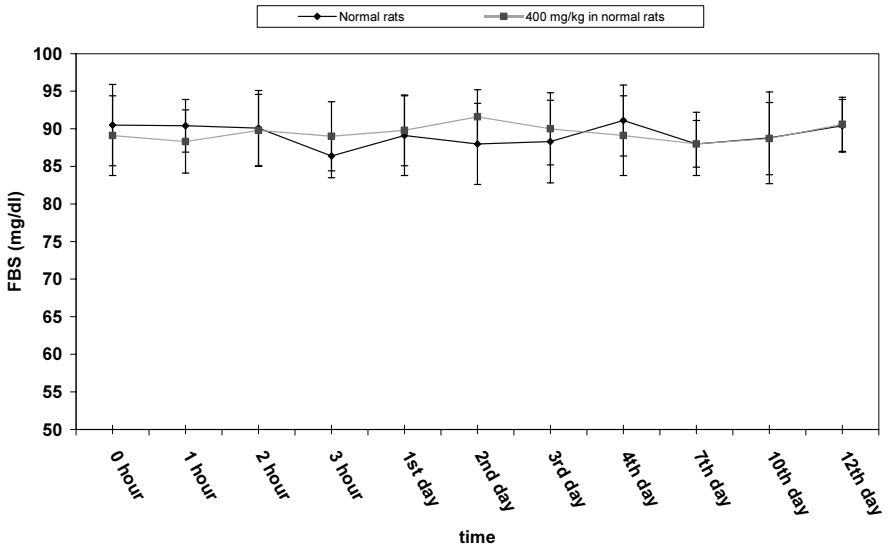


نمودار شماره ۲- اثر دوز mg/kg/day ۴۰۰ عصاره متانلی گیاه *Salvia mirzayanii* بر قندخون ناشتا موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین طی ۱۲ روز (تزریقIP)، هرنقطه نمایانگر Mean±SEM (بر اساس mg/dl) قندخون در ۷ حیوان در زمان مشخص می‌باشد. مقایسه آماری در هر ساعت تعیین شده بین گروه موردنظر و شاهد منفی انجام گرفته است. **۰/۰۰۱ >p، اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

FBS= Fast blood sugar

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]



نمودار شماره ۳- اثر تجویز دوز ۴۰۰ mg/kg/day عصاره متانلی گیاه *Salvia mirzayanii* طی ۱۲ روز بر قندخون ناشتا موش‌های صحرایی سالم (تزریق IP)، هر نقطه نمایانگر Mean±SEM (بر اساس mg/dl) قندخون در ۷ عدد موش سالم می‌باشد. مقایسه آماری در هر زمان تعیین شده، بین گروه سالم دریافت‌کننده دوز ۴۰۰ mg/kg/day و گروه موش سالمی که هیچ دریافت نکرده انجام گرفته است.

FBS= Fast blood sugar

ب – بررسی‌های هیستوپاتولوژی

به منظور بررسی تاثیر عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* بر روی تغییرات هیستوپاتولوژی پانکراس، کبد، کلیه و طحال حیوانات دیابتی و غیردیابتی تحت رنگ‌آمیزی H/E قرار گرفت و تغییرات هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آنها به صورت ذیل می‌باشد.

۱- اثر حامل (نرمال سالین) بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی سالم

جزایر لانگرهانس در این گروه که به عنوان کنترل محسوب می‌شد از لحاظ طرز قرارگیری سلول‌های مشکی و مویرگ‌های بینابینی طبیعی و دو نوع سلول تیره و روشن (α و β) قابل رویت بودند. در این روش معمولاً سیتوپلاسم قرمز و هسته بنفش رنگ می‌شود (نمای ائوزینوفیلی) و هسته سلول‌های آلفا به رنگ کم رنگ‌تر از سلول‌های بتا در بین بقیه سلول‌ها در جزایر لانگرهانس تشخیص داده می‌شوند (شکل شماره ۱ و ۲).

۲- اثر حامل (نرمال سالین) بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی

در این حالت تعداد سلول‌های تشکیل‌دهنده کاهش پیدا کرده، عروق خونی پر خون شده زمینه همبندی غالب بود. سلول‌های تشکیل‌دهنده جزایر لانگرهانس به وضوح کاهش پیدا کرده بودند. در موش‌های صحرایی که دو روز از تزریق استرپتوزوسین در آنها می‌گذشت تغییرات میکروسکوپی جزایر لانگرهانس شامل آتروفی جزایر همراه با تغییرات دژنرسانس در سلول‌های بتای مرکزی دیده می‌شد و سلول‌های آلفای محیطی متراکم تر به نظر می‌رسیدند (شکل شماره ۳).

۳- اثر عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی

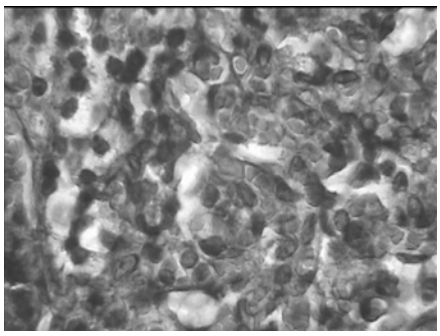
در حیواناتی که با دوز ٦٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیابتی شده به مدت ۱۲ روز تحت درمان با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم از عصاره قرار گرفته بودند سلول‌های بتا در جزایر لانگرهانس دیده می‌شد و سلول‌های تشکیل‌دهنده تیره از روشن متمایز بود. عروق خونی به خصوص مویرگ‌ها پرخون به نظر می‌رسید که نشان‌دهنده نوعی ترمیم است (شکل شماره ٤).

٤- اثر عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی سالم

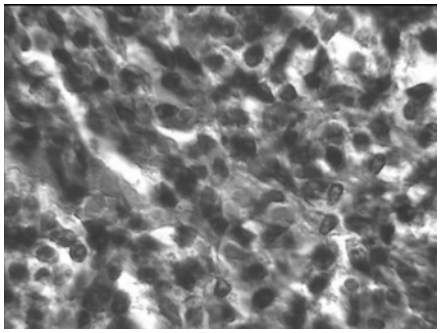
در موش‌های سالم تحت تاثیر عصاره، در نمونه پانکراس،

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

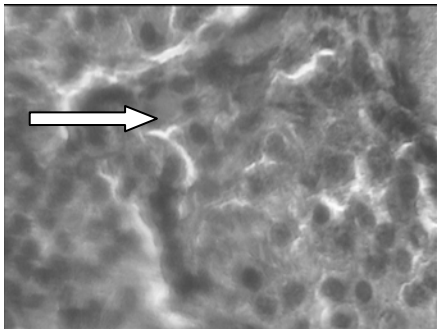
جزایر لانگرهانس طبیعی به نظر می‌رسید، پرخونی و تغییرات دژنراتیو مشاهده نمی‌شد (شکل شماره ۵).



شکل شماره ۱- شمای میکروسکوپی سلول‌های نرمال پانکراس موش‌های صحرایی – بزرگنمایی: ٤٠x



شکل شماره ۲- اثر حامل نرمال سالین بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی سالم - بزرگنمایی ٤٠x

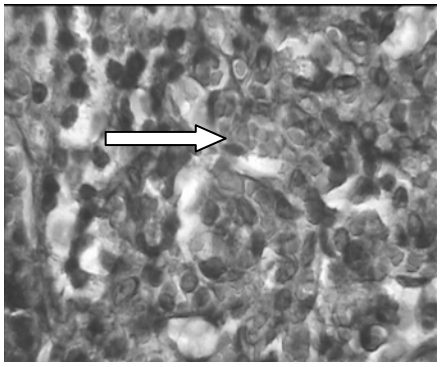


شکل شماره ۳- اثر حامل نرمال سالین بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی یک روز بعد از تزریق استرپتوزوسین - بزرگنمایی: ٤٠x

فلش: کاهش واکنش ائوزینوفیلی هسته سلول‌ها نشان دهنده مرگ سلولی است

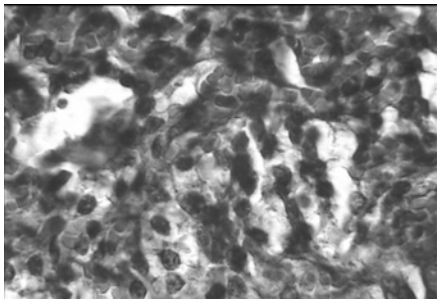
[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]



شکل شماره ٤- اثر عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* با دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی، ١٢ روز پس از تزریق عصاره - بزرگنمایی: x ٤٠

فلش: افزایش واکنش ائوزینوفیلی هسته سلول‌ها نشان‌دهنده آغاز ترمیم بافتی است. عروق خونی به صورت حفرات بی‌رنگ دیده می‌شود.



شکل شماره ٥- اثر عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* با دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر روی هیستوپاتولوژی پانکراس موش‌های صحرایی سالم، ١٢ روز پس از تزریق عصاره - بزرگنمایی x ٤٠

٥- اثر عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* روی سایر ارگان‌های حیوانات

در بررسی کبد، کلیه و طحال تحت درمان با دوز **٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم** از عصاره برای ١٢ روز هیچ‌گونه تغییر هیستوپاتولوژیک دیده نشد و این ارگان‌ها با گروه شاهد یکسان بودند که نشان‌دهنده عدم ایجاد سمیت خاصی در این مدت زمان بود.

بحث

امروزه مناسب‌ترین ماده برای ایجاد دیابت تجربی استرپتوزوسین می‌باشد که به طور اختصاصی بر روی سلول‌های بتا پانکراس اثر گذاشته و آنها را از بین می‌برد [٣].

تزریق عصاره گیاه *Saliva mirzayanii* به موش‌های صحرایی دیابتی باعث کاهش غلظت گلوکز خون به طور معنی‌داری شده است. توجیه این که عصاره از چه مکانیسمی باعث کاهش قند خون شده است مقداری مشکل به نظر می‌رسد.

در ساعت سوم از تزریق عصاره گیاه در موش‌های صحرایی دیابتی بهترین اثر پایین آورندگی قند خون در حیوانات دیده شد. این اثر به خصوص در مورد دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن حیوانات بیشتر مشاهده شد ($p< ٠/٠٠١$).

تزریق طولانی مدت عصاره مورپرزو با دوز **٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم** به مدت ١٢ روز به حیوانات دیابتی شده نیز باعث اثر معنی‌داری در کاهش قند خون حیوانات گردید ($p<٠/٠١$) و این نتیجه با یافته‌های هیستوپاتولوژیک مطابقت داشت. به طور کلی در حیوانات دیابتی شده و تحت درمان با عصاره (به مدت ١٢ روز) در بافت پانکراس وجود نوعی ترمیم بافتی دیده می‌شود و در بافت در حال ترمیم سلول‌های جدید تیره از

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

روشن قابل تمایز هستند. عروق خونی پرخون شده‌اند و می‌توان نتیجه گرفت که عصاره می‌تواند در نرمال سازی جزایر لانگرهانس آسیب دیده ناشی از دیابتی کردن حیوانات تأثیر داشته باشد. نمای میکروسکوپی افزایش ائوزینوفیلی سیتوپلاسم سلول‌های بتای باقیمانده و تا حدودی افزایش آنها را نشان می‌داد.

استرپتوزوسین و آلوکسان به عنوان دو داروی القاکننده دیابت شیرین نوع دو با درجات به ترتیب خفیف و متوسط با ایجاد اثرات سایتوتوکسیک روی سلول‌های بتا پانکراس باعث تخریب سلول‌ها و ایجاد هیپرگلیسمی می‌شوند [۱]. بنابراین ترکیبات گیاهی که اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدرادیکال‌های آزاد دارند مانند اکثر فلاونوئیدهای گیاهی، می‌تواند باعث ترمیم آسیب‌ها در درازمدت شوند [۲۰، ۱]. با توجه به این که این گیاه دارای فلاونوئیدهایی از جمله آپی ژنین، اسکوتلارئین ٦ و ٧- دی‌متیل‌اتر، اسکوتلارئین متیل اتر، ٦- هیدروگزایلوتئولین، ٦ و ٧ و ٣ و ٤- تترامتیل اتر ٦- هیدروگزایلوتئولین و تانن‌ها [۱۳] به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی، می‌باشد لذا این اثرات ترمیمی و پایین‌آورندگی قند خون در حیوانات دیابتی را می‌توان به این مسأله نیز ربط داد که البته به تحقیقات بیشتری نیاز دارد. وجود ترپنوئید جدیدی از دسته سس‌ترپن‌ها به نام سالوی میرزاکولید، با توجه به این که آنها می‌توانند باعث افزایش ترشح انسولین از سلول‌های پانکراس در حیوانات دیابتی شوند را نیز نباید از ذهن دور داشت [۵،۱۲].

عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* روی موش‌های صحرایی سالم، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در پایین‌آورندگی قند خون با گروه شاهد ایجاد نشود. در نمای میکروسکوپی نیز تغییر خاص هیستوپاتولوژیک در پانکراس حیوانات ایجاد نشده بود. نتیجه‌گیری از این موضوع مستلزم تحقیقات وسیع‌تر به‌خصوص اندازه‌گیری همزمان میزان انسولین خون و انجام تست GTT دارد.

بررسی هیستوپاتولوژیک کبد و کلیه و طحال حیوانات نشان‌دهنده هیچ‌گونه تغییری در هیچ‌کدام از گروه‌ها اعم از دیابتی و غیردیابتی و گروه تحت درمان با عصاره نبود و این علامت مثبتی است که نشان می‌دهد عصاره با دوز به کاربرده شده دارای سمیت کبدی و کلیوی و اثرات ناخواسته روی طحال نمی‌باشد.

در پایان، نتایج حاصله نشان می‌دهد، که عصاره گیاه *Salvia mirzayanii* دارای خاصیت پایین‌آورندگی قند خون در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین بوده، مصرف این گیاه در طب سنتی و مصرف درازمدت آن بدون ایجاد عارضه خاصی در حیوان آزمایشگاهی می‌تواند دلیل بر عدم سمیت این گیاه باشد هر چند که تصدیق خاصیت هیپوگلاسمیک و ایمنی عمومی این گیاه مستلزم آزمایش‌های کنترل کلینیکی است.

مکانیسم‌های متعددی برای اثر پایین‌آورندگی قند خون گیاهان ذکر شده است ولی چهار مکانیسم بیشتر مورد بحث می‌باشند: الف) تأثیر بالقوه بالا رفتن سطح گلوکز بر افزایش ترشح انسولین، ب) افزایش برداشت محیطی گلوکز توسط بافت‌ها، ج) کاهش جذب گلوکز از روده و د) افزایش ساخت بافت سلول‌های بتای جزایر پانکراس البته بعد از تجویز مدت‌دار گیاه [۱۷].

در مقایسه اثر ضددیابتی گیاه *Salvia mirzayanii* با سایر گونه‌های *Salvia* که در بررسی منابع و مقالات اثر ضددیابتی آنها ثابت شده است، می‌توان پی برد که گیاه مورد مطالعه دارای اثر بهتری نسبت به *Salvia lavandulifolia* و اثری تقریباً مشابه با *Salvia fruticosa* می‌باشد [۱۵،۱۷،۱۹]. *Salvia lavandulifolia* در خرگوش دیابتی قند خون را پایین‌آورده در حالی که در حیوانات سالم تنها با تأثیر بر جذب روده‌ای گلوکز از افزایش قند خون جلوگیری نموده است بنابراین اثری غیروابسته به انسولین برای آن پیشنهاد شده است [۱۹]. *Salvia officinalis* باعث کاهش معنی‌داری در قند خون موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین در یک تک دوز شده است و بر حیوانات سالم اثری نداشته است بنابراین ذکر شده بر آزادسازی انسولین از پانکراس در این تک دوز استفاده شده تأثیری در هر دو گروه نداشته است [۷]. *Salvia furticosa* نیز باعث کاهش قند خون حیوانات دیابتی شده، بدون تغییر در سطح پلاسمایی انسولین شده و جذب روده‌ای گلوکز را کاهش داده است [۱۵]. *Salvia aegyptica* با مکانیسمی کاملاً متفاوت از گونه‌های دیگر قند خون را هم

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

در حیوانات دیابتی و هم سالم، حتی با اثری بیش از گلی بن‌کلامید کاهش داده است [۱٦]. گیاه کلپوره[1] از خانواده نعناع که به عنوان ضددیابت مصرف سنتی دارد نیز طی ٦ هفته مصرف، تنها قندخون موش‌های صحرایی دیابتی را کاهش داده است اما اثر خود را با افزایش سطح انسولین خون نمایان ساخته است [۸].

هر چند با اطلاعات موجود اظهارنظر در مورد مکانیسم اثر پایین‌آورندگی قند خون گیاه *Salvia mirzayanii* در حیوانات دیابتی شده مشکل می‌باشد و مطمئناً احتیاج به تحقیقات دیگری در زمینه جذب روده‌ای گلوکز و اندازه‌گیری سطح انسولین خون دارد. ولی آنچه مسلم است با توجه به اینکه مصرف IP نمی‌تواند اثرت عصاره را در کاهش جذب گلوکز از روده حذف کند و تنها عبور اولیه کبدی را کمتر می‌نماید، بنابراین در صورتی که عصاره از طریق تأثیر در برداشت گلوکز در بافت‌های محیطی تأثیر خود را اعمال نماید اثرات آن بر روی بافت محیطی بیشتر می‌شود که می‌توان با بررسی مصرف عصاره با روش تزریقی صحت این موضوع را تأیید نمود [٦]. ترمیم بافت‌های آسیب دیده پانکراس هر چند که به ۳ هفته زمان نیاز دارد ولی مشاهده سلول‌های آغاز به ترمیم نموده در نمای هیستوپاتولوژی به صورت افزایش تمایل هسته سلول به رنگ‌پذیری توسط ائوزین (واکنش ائوزینوفیلی) می‌تواند جهت شروع به ترشح مناسب انسولین در دراز مدت توجیهی بر اثرات آن باشد هر چند که تمامی این موارد احتیاج به تحقیقات تکمیلی دارد.

برای این که بتوان از این گیاه به عنوان پایین‌آورنده قند خون استفاده کرد، لازم است مطالعات انسانی جامعی نیز برای تأیید این اثر انجام شود و عوارض بلندمدت مصرف عصاره در انسان به دقت بررسی شود.

نتیجه‌گیری

عصاره *S. mirzayanii* باعث پایین‌آوردن قند خون حیوانات دیابتی شده گردید و اثر آن در ترمیم بافت آسیب دیده پانکراس، انگیزه‌ای است که این گیاه را جهت مطالعات تکمیلی و ادامه تحقیقات در زمینه داروهای ضددیابت با منشاء گیاهی، نامزد مناسبی می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از جناب آقای دکتر شهریار دبیری که زحمت قسمت پاتولوژی تحقیق را کشیدند و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان که بخشی از هزینه این کار تحقیقاتی را تقبل نموده‌اند و آقای دکتر علیرضا میرمالک که کارهای اولیه تحقیق را انجام دادند، کمال تشکر را دارند.

[1] *Teucrum polium*

منابع

1. Yadav S, Vats V, Dhunnoo Y. Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Murraya koenigii* leaves in diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 82: 111 - 6.

2. Alarcon-Aguilara FJ, Perez-Gutierrez S Roman-Ramas R, 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 - 10.

3. Benwahhoud M, Jouad, Eddouks M, Lyoussi B. Hypoglycemic effect of *Suaeda fruticosa* in streptozocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 35 - 8.

4. Krishna Murthy B, Nammi S, Kota MK, Krishna Rao N, Annapurna A. Evaluation of the anti hyperglycemic activity of *Datura metel* seeds in normal and alloxan induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 91 (1): 95 - 8.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]

5. Ojewole AO. Hypoglycemic effect of *Clausena anisata* Hook methanolic root extract in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2002; (8): 231 - 7.

6. Pepeto MT, Keller EH, Baviera AM, Kettelhut IC, Vendramini RC, Brunetti IL. Anti-diabetic activity of *Bauhinia forficta* decoction in streptozocin-diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 81: 191 - 7.

7. Eidi M, Eidi A, Zamanizadeh H. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 100: 310 - 3.

8. Esmaeili MA, Yazdanparast R. Hypoglycemic effects of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 95: 27 - 30.

9. Moshafi, MH, Mehrabani M, Zolhasab H. Antibacterial activity studies of *Salvia mirzayani* and *Salvia atropatana* against six standard gram positive and gram negative bacteria. *J. Kerman University of Medical Sci*. 2004; 11 (2): 109 - 18.

10. Asadipour A, Mehrabani M, Moghadaddasian M, Ramazani M, Amanzadeh Y and Saber-Amoli S. Composition of the volatile oil of *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. from Iran. *J. Essential Oil Bearing Plants* 2004; 7 (2): 182 - 5.

11. Javidnia K, Miri R, Kamalinejad M, Nasiri A. Composition of the essential oil of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand from Iran. *Flavor and Fragrance J.* 2002; 17: 465 - 7.

12. Matloobi Moghaddam A, Amiri R, Alam M, Hossain MB, Vander Helm D. Structure and absolut stereochemistry of Salvia mirzacolide from *Salvia mirzayanii. J. Nat Prod.* 1998; 61 (2): 279 - 81.

13. Wollen Weber E, Doerr M, Rustaiyan A, Raitman JN, Grayen EH. Exudate flavonoids of some *Salvia* and *Trichostema* species. *Z. Natur. Forsch.* 1992; 47 (9-10): 782 - 4.

14. Newall CA, Aderson LA, Phillpson JD. Herbal Medicine. 1st ed. The Pharmaceutical Press. London. 1996, pp: 231 - 2.

15. Perfumi M, Arnold N and Tacconi R. Hypoglycemic activity of *Salvia fruticosa* Mill. *J. Ethnopharmacol.* 1991; (23): 135 - 40.

16. Shanana MM, Mirhom YM, Genenah AA, Aboutaleb EA, Amer HA. Study into wild Eygetian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycemic activity of some selscted plants in normal fasting and alloxanised rats. *Arch Exp Veterinarmed.* 1990; 44 (3): 389 - 94.

17. Zarzuelo A, Risco S, Gamez MJ, Jimenez J, Camara M, Martinez MA. Hypoglycemic action of *Salvia lavandulifolia* Vahl. Spp. *Oxyodon*: a contribution to studies on the mechanism of action. *Life Sci.* 1990; 47 (11): 909 - 15

18. Sharp PE, LaRegina MC, The laboratory rat. London, CRC Press, 1998, pp: 111 - 3, 138 - 43.

19. Jimene J, Risco S, Ruiz T, Ruiz T, Zarzuelo A. Hypglycemic activity of *Salvia lavandulifolia*. *Planta Medica* 1985; (52): 260 - 2.

20. Sabu MC, Kuttan R. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 81: 155 - 60.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.12.4]