مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـــگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲٤, شماره‌ی ۱۰۷, بهمن و اسفند ۱۳۹۵, صفحات ۱۱۹ تا ۱۲۹

اثر پالماتین هیدروکلراید بر استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

زهرا پاک سرشت[۱]، پیراسته نوروزی[۲]، دکتر ویدا حجتی[۳]، دکترحمید کلالیان مقدم[٤]

نویسنده‌ی مسوول: گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود h.kalalian@gmail.com

دریافت: ۹۴/۳/۹ پذیرش: ۹۵/۱/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: *دیابت یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع و مزمن است که آمار جهانی آن از جمله در ایران رو به افزایش می‌باشد. دیابت ملیتوس با ایجاد استرس اکسیداتیو و تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌تواند سبب آسیب‌های متابولیسمی شود و دفاع آنتی اکسیدانی را غیرفعال نماید. پالماتین هیدروکلراید آثار فارماکولوژیکی متعددی دارد از جمله این که آنتی دیابت و آنتی‌اکسیدان است. این مطالعه با هدف پیشگیری از عوارض اکسیداتیو ناشی از دیابت انجام گردید.*

روش و بررسی: *در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، به‌طور تصادفی انتخاب و به چهار گروه: کنترل، غیر دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابتی و دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم القا گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با پالماتین هیدروکلراید با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت شش هفته و به‌صورت زیر جلدی انجام گردید. پس از اتمام زمان آزمایش، از قلب موش‌های صحرایی خون گیری به عمل آمد و پارامترهای گلوکز، انسولین، مالون دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و نیتریت اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها: *نتایج مطالعه نشان می‌دهدکه دیابت باعث افزایش سطح گلوکز، مالون دی‌آلدئید، نیتریت و کاهش انسولین ($P<0/001$) و فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در موش‌های صحرایی دیابتی، نسبت به‌گروه کنترل گردید و تجویز پالماتین هیدروکلراید سبب بهبودی استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی ($P<0/05$) شد.*

نتیجه‌گیری: *پژوهش حاضر نشان داد که درمان با پالماتین باعث کاهش قندخون و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین گردید.*

واژگان کلیدی: ***دیابت، پالماتین، استرس اکسیداتیو، مالون دی‌آلدئید***

مقدمه

دیابت ناشی از اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها وپروتئین‌ها است که براثر فقدان ترشح انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین ایجاد می‌شود (۱). این بیماری عوارض متابولیکی حادی نظیر کتواسیدوز، اغمای هیپراسمولار و یا عوارض مزمن نامطلوب نظیر: نوروپاتی (۲)، نفروپاتی (۳)، رتینوپاتی (٤)، ضایعات پوستی و نیزاختلالات

۱- کارشناس ارشد سلول و تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان

۲- کارشناس ارشد سلول و تکوینی، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود

۳- دکترای تخصصی سلول و تکوین، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان

٤- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود

متعددی در سیستم قلب و گردش خون ایجاد می‌نماید (۵). در بیماران مبتلا به دیابت خطر پیشرفت ضایعات عروقی وجود دارد، یکی از عوامل بسیار مهم و موثر در اتیولوژی آن را صدمات اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن می‌دانند که تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بیماران می‌تواند تا حدودی مانع از ایجاد و پیشرفت این عوارض گردد (٦). پراکسیداسیون لیپیدها در اسیدهای چرب غیر اشباع باعث ترکیب شدن اسیدهای چرب با رادیکال‌های آزادی که از دیابت ناشی شده‌اند می‌شود. بنیان اسیدهای چرب از حالت طبیعی خارج شده و محصول نهایی اکسیداسیون لیپیدها، تولید پنتان، اتان و مالون دی آلدهید می‌باشد (۸و ۷). NO یک مولکول کوچک چربی دوست با نیمه عمر کوتاه است که در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی دخالت دارد. این مولکول یک پیک داخل سلولی و بین سلولی در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک بوده و لذا در حفظ هموستازی بدن نقش اساسی دارد. از طرف دیگر NO قادر است با مولکول اکسیژن واکنش کرده و N2O3 تولید کند. N2O3 نیز به نوبه خود با مولکول‌های اکسیژن مانند: سوپر اکسید (O_2^-) واکنش داده و پراکسی نیتریت (-ONOO) تولید می‌کند که این ماده باعث آسیب‌های بافتی می‌شود (۱۰و ۹). سوپراکسید دیسموتاز یک متالوپروتئین است و به‌عنوان اولین و مهم‌ترین خط دفاعی در برابر رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده در سلول عمل می‌کند، زیرا رادیکال‌های سوپراکسید باعث تشکیل پراکسید هیدروژن و اکسیژن دیسموته می‌شود (۱۱). در دیابت ملیتوس، گلوکز بالا به راحتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GPx، SOD، CAT، را غیر فعال می‌کند. قند بالا و گلایکه شدن این پروتئین‌ها، سبب استرس اکسیداتیو می‌شود که خود سبب پراکسیداسیون لیپید می‌شود (۱۲). از این رو به منظور برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیو، محققین از داروهای متعدد با خاصیت آنتی اکسیدان از جمله ویتامین E، ویتامین C و بتاکاروتن استفاده نموده‌اند (۱۳). پالماتین هیدروکلراید یک پروتوبربرین از گروه آلکالوئیدها است که در ریشه و پوست ساقه‌ی خانواده‌های گیاهی متعددی ازجمله *Berberis aristata*، *Coptis chinensis franch* و *Coptidis rhizome* یافت شده است. این ترکیب دارای آثار آنتی اکسیدان، ضدالتهابی، ضدمالاریا، ضدمیکروبی، ضدسرطان، آرام بخشی (١٤) و کاهنده‌ی قند و چربی خون (۱۵) است. پالماتین سبب تحریک ترشح انسولین می‌شود (١٦)، میزان سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد و آزادسازی رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد (۱۷). این توانایی بیانگر خاصیت آنتی اکسیدان پالماتین هیدروکلراید است. همچنین این ماده به دلیل دارا بودن عملکرد ضدالتهابی، باعث تنظیم پاسخ سیتوکین‌ها و مهار مرگ سلولی می‌شود (۱۸). ریشه گیاه کاپتیس یک فرآورده‌ی دارویی مهم در چین است که به تنهایی و یا به شکل ترکیبی در درمان دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵). همچنین گیاه زرشک خاردار (*Berberis aristata*) که در هندوستان به‌عنوان Daruharidra شناخته می‌شود؛ به‌طور گسترده در سیستم‌های مختلف پزشکی سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های چشم، گوش، رماتیسم، یرقان، دیابت، اختلالات معده، پوست، تب مالاریا و به‌عنوان نیروبخش استفاده شده است. اجزای سازنده آن شامل بربرین، بربامین، پالماتین و چند ماده دیگر است. به‌دلیل خواص آنتی اکسیدانی عصاره پوست ساقه‌ی گیاه، موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان، محافظت قابل ملاحظه‌ای دربرابر انواع فعال اکسیژن به‌دست آوردند (۱۵). همچنین این ترکیب سبب تنظیم هموستاز گلوکز از طریق کاهش گلوکونئوژنز و استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۹). با توجه به شواهد متعدد که نشان دهنده‌ی نقش موثر پالماتین و گیاهان دارنده‌ی پالماتین در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم اختلالات اکسیداتیو ناشی از القای دیابت است؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر

پالماتین هیدروکلراید بر استرس اکسیداتیو موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۰ ± ۲۲۰ گرم، تهیه شده از موسسه‌ی پاستور کرج استفاده شد. حیوانات در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی واحد شاهرود در قفس‌های دوتایی با چرخه نوری ۱۲ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای ۲۲±۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۳۰ درصد نگهداری شدند. این شرایط طی آزمایش نیز حفظ گردید. نمونه‌ها به‌منظور انطباق با محیط، از دو هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شاهرود قرار گرفتند.

موش‌های صحرایی به طور تصادفی در چهار گروه زیر دسته بندی شدند:گروه کنترل، گروه کنترل تیمار شده با پالماتین، دیابتی و دیابتی تیمار شده با پالماتین القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین STZ(SO130) شرکت سیگما با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در بافر سیترات (۰/۰۵ مولار با pH =٤/٥) در ١٦ سر از موش‌ها انجام شد. سنجش قند خون با استفاده از خون سیاهرگ دمی و به کمک دستگاه Glucoard 01 (USA) انجام شد و موش‌های صحرایی دارای قند خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. همزمان با تزریق محلول موش‌های گروه کنترل بافر سیترات را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. یک هفته پس از القای دیابت، روزانه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از داروی پالماتین هیدروکلراید (SC-205788) شرکت سانتا کروز بیوتکنولوژی را به‌صورت زیرجلدی به مدت شش هفته به گروه کنترل تیمار شده با پالماتین و دیابتی تیمار شده با پالماتین (تزریق) نمودند و محل تزریق روزانه تعویض شد. در انتهای دوره با تزریق مواد هوش بری کتامین و دیازپام به‌صورت درون صفاقی بی‌هوش شدند و خون مستقیما از قلب آنها گرفته شد.

اندازه‌گیری قند خون با کیت پارس آزمون و به روش آنزیمی یک هفته در میان (۷و ۵و ۳) و با دستگاه فتومتر (5010 German) انجام شد. بعد از هفته‌ی هفتم اندازه‌گیری سطح انسولین به وسیله کیت Monobind تهیه شده از کشور آلمان به روش الیزا انجام گرفت. اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید (MDA) به روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) است و در دمای جوش انجام شد. در این روش مالون دی آلدئید یا مواد شبه مالوندی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کنند که ماگزیمم جذب نوری آنها، در طول موج ۵۳۲ نانومتر است. برای این کار از سرم موش‌ها به مقدار ۱۵۰ میکرولیتر برداشته و به ۱/۵ سی‌سی تری‌کلرواسیداستیک و ۱/۵ سی‌سی از TBARS اضافه شد. تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف را به‌مدت ۸۰ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار داده تا واکنش صورت بگیرد. سپس محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و بعد محلول رویی را برداشته و با جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر با دستگاه الایزا (Stat Fax2100) خوانده شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت‌های تترا اتوکسی‌پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به‌دست آمده از نمونه‌ها بر روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد. سنجش میزان نیتریت بر اساس واکنش گریس انجام شد. به دلیل مشکل بودن سنجش مستقیم نیتریک اکساید؛ میزان نیتریت و نیترات به‌عنوان شاخصی برای نیتریک اکساید محسوب می‌شود. محلول کاری شامل سولفانیل آمید ۱ درصد، نفتیل اتیلن دی آمید دی هیدرو کلرید ۰/۱ درصد و ارتوفسفریک اسید ۲/۵ درصد بود. برای سنجش در پلیت الایزا مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر Buffer Assay ریخته شد سپس نمونه پلاسما به نسبت ۱/۲ رقیق شد و به درون چاهک اضافه کرده بعد

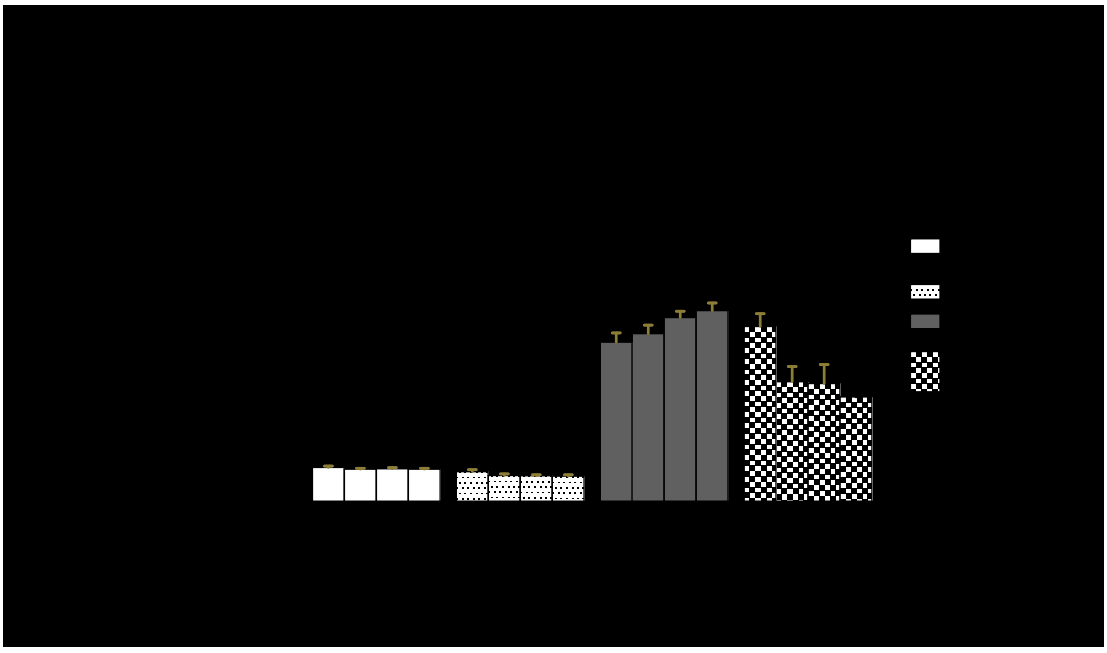
۱۰ میکرولیتر Enzyme Cofactor و ۱۰ میکرولیتر Nitrate Reductase به تمامی چاهک‌ها اضافه کرده، پلیت‌ها پوشیده و در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد مدت ۱ ساعت نگهداری شد و بعد ۵۰ میکرولیتر از محلول گریس ۱ و ۵۰ میکرولیتر از محلول گریس ۲ به تمامی چاهک‌ها اضافه کرده و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه قرارداده با طول موج نوری ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و برای منحنی استاندارد از رقت‌های مختلف نیتریت سدیم استفاده گردید.

اصول اندازه‌گیری SOD: سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) در دیسموتاسیون رادیکال سمی O_2^- تولید شده در طی مراحل اکسیداتیو انرژی به O_2 و H_2O_2 شرکت می‌کند. در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز (XOD) جهت تولید رادیکال‌های سوپر اکساید استفاده می‌شود که با Int (فنیل‌تترازولیوم‌کلراید - ۵- (نیتروفنل -٤) - ۳- (یدوفنل -٤) -۲) واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌شود که در طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. در صورت وجود آنزیم SOD در نمونه رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و O_2 تبدیل شده و از ایجاد رنگ قرمز فورمازان ممانعت می‌شود و فعالیت آنزیم SOD به‌وسیله درجه‌ی ممانعت از این واکنش تعیین می‌شود. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰ درصد سرعت احیا Int یا مهار ۵۰ درصد مقدار اکسیداسیون NADPH تحت غلظت‌های اندازه‌گیری می‌باشد.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری prism 5.0 و آزمون‌های Tukey,one way ANOVA انجام شد.

یافته ها

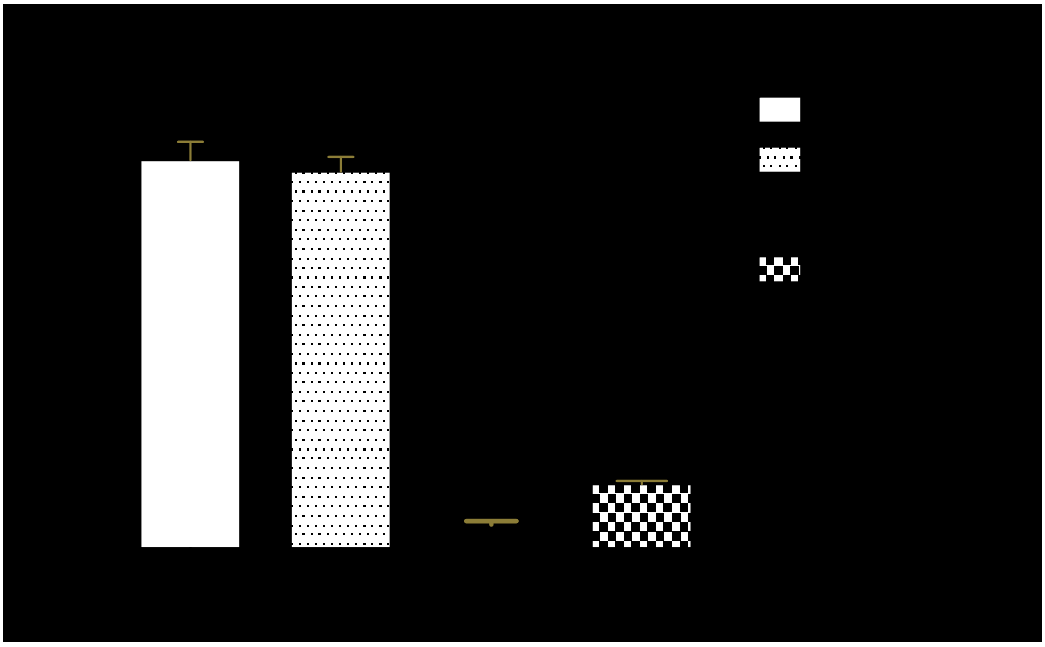
میزان وزن موش‌های صحرایی گروه دیابتی (۱۷۷/۸±۱۰/۵۰) و گروه دیابتی تیمار شده با دارو (۲۱۷/۱±۵/۸۵۷) در مقایسه با گروه کنترل (۳۲۲/۹±۳/۳۶۲) کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). این میزان در گروه دیابتی تیمار با دارو از هفته‌ی پنجم به بعد افزایش معنی‌داری نسبت‌به گروه دیابتی نشان داد (P<۰/۰۰۱). علاوه‌بر این، در گروه کنترل تحت درمان با پالماتین (۲۷۸/٤±۰/۵۳۲٤ گرم) نیز کاهش در وزن نسبت به گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). در نمودار ۱، میزان قند خون درگروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۱) و درمان موش صحرایی دیابتی شده با پالماتین در طی مدت ۷ هفته باعث کاهش قابل توجهی در گلوکز سرم (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه دیابتی گردید. علاوه‌بر این، در گروه کنترل تحت درمان با پالماتین نیز کاهش در سطح گلوکز سرم بیش از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). نمودار ۲، میزان انسولین بین گروه دیابت و کنترل نشان می‌دهد، دیابت سبب کاهش معنی‌دار در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل شده است (P<۰/۰۰۱)، همچنین کاهش انسولین در گروه دیابتی تیمار با دارو نیز نسبت‌به گروه کنترل تیمار با دارو کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱)، در گروه دیابتی تیمار با دارو انسولین نسبت به گروه دیابتی افزایش یافته، میزان انسولین در گروه کنترل تیمار با دارو نسبت‌به کنترل کاهش یافته اما معنی‌دار نیست، مقدار انسولین در گروه دیابتی تیمار با دارو نسبت‌به گروه دیابتی افزایش یافته و معنی‌دار است. نمودار ۳ و ٤، دیابت منجر به افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطح میزان نیتریت و مالون دی آلدئید نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۱). تجویز پالماتین سبب کاهش قابل توجه سطح مالون دی‌آلدئید نسبت به گروه دیابتی گردید (P<۰/۰۱). علاوه بر این، در گروه کنترل تحت درمان با پالماتین نیز کاهش در سطح مالون دی‌آلدئید بیش از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). نمودار ۵، سطح آنزیم سوپراکسید موش‌های صحرایی دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۱). درمان با پالماتین سبب افزایش معنی‌دار سطح سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با گروه دیابتی گردید (P<۰/۰۵).



نمودار ۱: میزان قندخون در هفته اول، هفته سوم، پنجم و هفتم بین گروه‌های کنترل و دیابت.

تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح P<۰/۰۰۱ را با ϕϕϕ

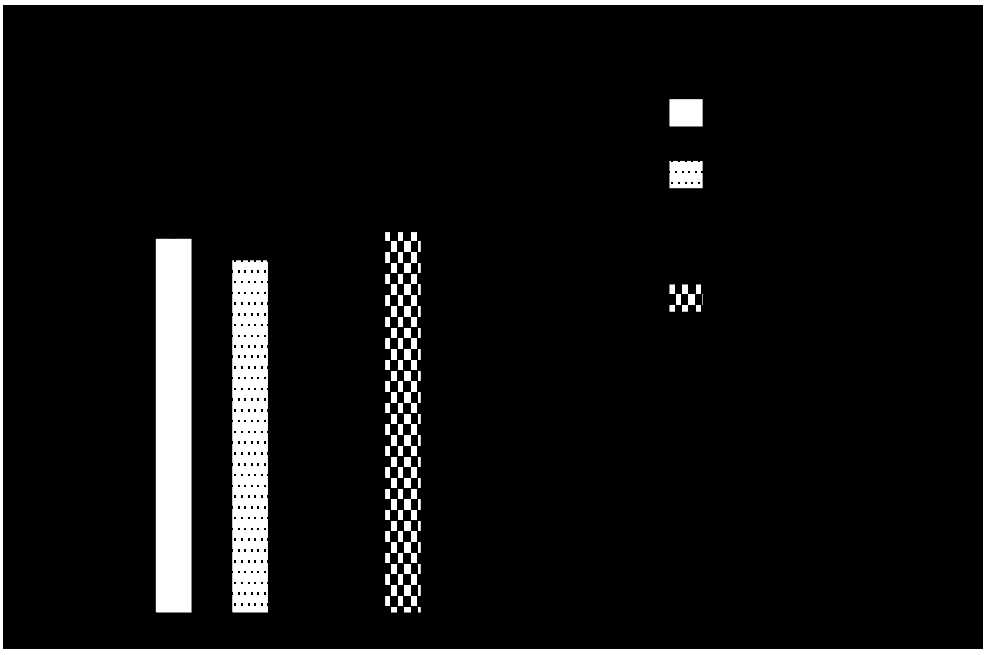
*تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح P<۰/۰۵ را با * و در سطح P<۰/۰۰۱ را با *** نشان داده شده است.*



نمودار ۲: میزان انسولین سرم خون بین گروه‌های دیابت و کنترل

تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح P<۰/۰۰۱ را با ∞

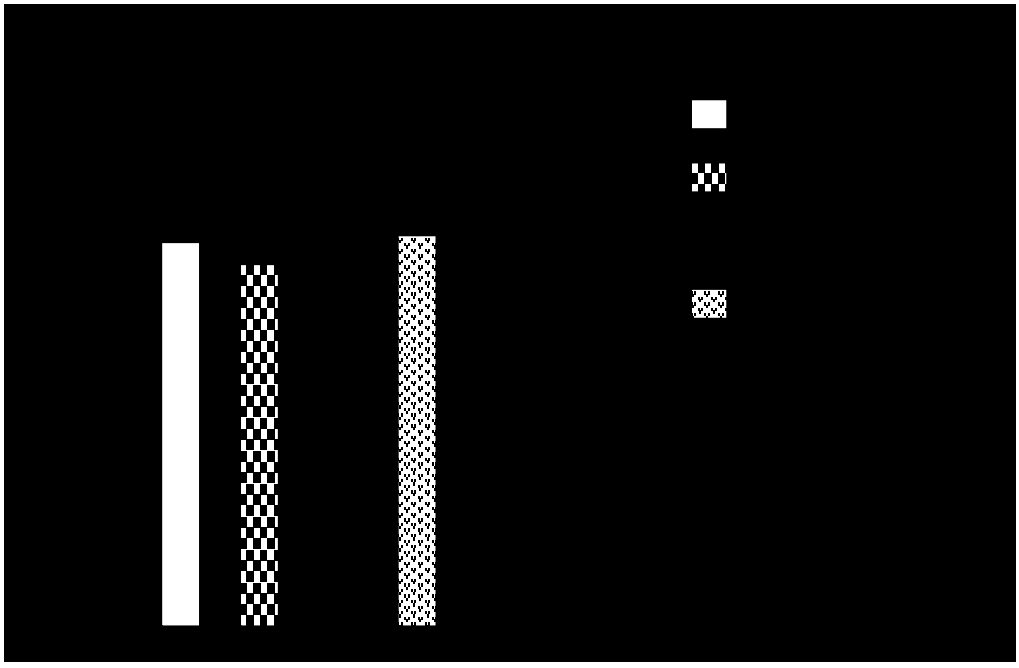
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح P<۰/۰۰۱ را با ϕϕϕ نشان داده شده است.



نمودار ۳: میزان NO سرم نمونه‌های دیابتی با گروه کنترل

*تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح P<۰/۰۱ را با ** *

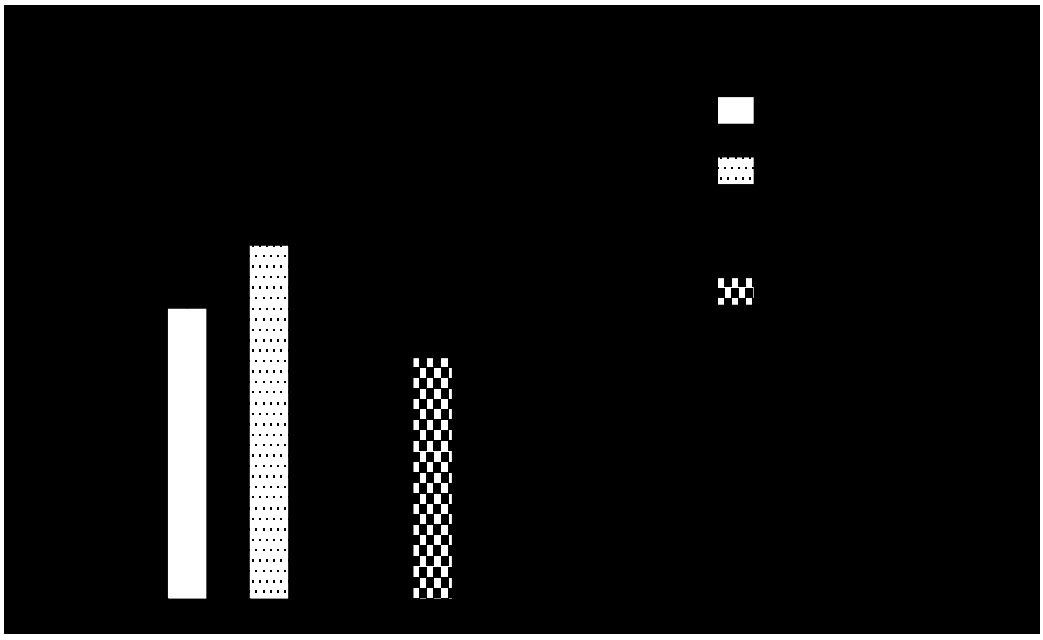
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح P<۰/۰۵ را با o نشان داده شده است



نمودار ٤: میزان MAD سرم نمونه های دیابتی با گروه کنترل.

*تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح P<۰/۰۱ را با ** *

تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح P<۰/۰۵ را با o نشان داده شده است



نمودار ۵: میزان SOD سرم نمونه‌های دیابتی با گروه کنترل

*تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح P<۰/۰۰۱ را با ****

تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح P<۰/۰۱ را با oo نشان داده شده است

بحث

پژوهش حاضر نشان داد القای دیابت علاوه بر افزایش گلوکز خون از راه تغییر در سیستم آنتی‌اکسیدانی سبب بروز استرس اکسیداتیو شده است. اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌های دیگر و موتاسیون در DNA میتوکندریایی به موازات گسترش دیابت توسعه می‌یابد (۲۰). در تحقیقات گذشته بر این نکته تکیه شده است که در طی دیابت نوعی استرس اکسیداتیو وابسته به میتوکندریایی ایجاد می‌گردد که این استرس اکسیداتیو می‌تواند آثار مخربی بر روی سلول‌های مختلف از جمله سلول‌های مترشحه انسولین پانکراس یا آنزیم‌های موثر در متابولیسم مواد، اعمال نماید (۲۱). در این پژوهش میزان انسولین سرم در گروه‌های دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که با تحقیقات پژوهشگران گذشته هم‌سو می‌باشد. در نمونه‌های تیمار شده با پالماتین به مدت ٦ هفته سبب کاهش معنی‌دار در سطح گلوکز، مالون دی آلدییـد و نیتریت و افزایش انسولین و سوپراکسیددیسموتازگردید که نشان دهنده تاثیر پالماتین می‌باشد.

پالماتین در شرایط invivo در موش‌های سالم، قند خون ناشتا را کاهش داده و از افزایش گلوکز سرم ۲ ساعت پس از تجویز ۲ گرم برکیلوگرم گلوکز جلوگیری کرد. افزایش سطح انسولین سرم پس از تغذیه با گلوکز، موید توان این آلکالوئید در تحریک ترشح انسولین که ناشی از تحریک بقای سلول‌های بتا است، می‌باشد (۲۲). به علاوه عصاره‌ی گیاه *بربریس آریستاتا* و اجزای زیستی فعال آن از جمله پالماتین در موش‌های صحرایی دیابتی، فعالیت گلوکوکیناز و گلوکز ٦ فسفات دهیدروژناز را افزایش داده و فعالیت گلوکز ٦ فسفاتاز را کاهش داد و در نهایت سبب تنظیم هموستاز گلوکز از طریق کاهش گلوکونئوژنز و استرس اکسیداتیو شد (۱۳). در رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو تیمار شده با رژیم غذایی

پرچرب و دوز پایین استرپتوزوتوسین قند ناشتا کاهش یافته و تحمل انسولین به‌طور بارزی با پالماتین اصلاح شده است (۲۳). پالماتین در بافت میوکارد موش‌های صحرایی تحت ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون، به مقدار قابل توجهی میزان SOD و CAT را افزایش داد. SOD یک آنزیم آنتی‌اکسیدان است که تبدیل O_2^- (سوپراکسید) را به H_2O_2 و O_2 کاتالیز می‌کند. بنابراین می‌توان متوجه شد که پالماتین می‌تواند آزاد سازی رادیکال‌های آزاد را طی ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون کاهش دهد (۲۳).

MAD یک فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپید است که برای شناسایی و تعیین رادیکال‌های اکسیژن آزاد واسطه در آسیب استفاده می‌شود. پالماتین مقدار MAD سرم را در موش‌های صحرایی تحت ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون، کاهش داد (۲۴و ۲۵و ۲۶).

ترکیب NO سمی نیست و حتی در غلظت‌های بسیار زیاد هیچ آسیب بافتی قابل ملاحظه‌ای ایجاد نمی‌کند(۲۷). لیکن واکنش NO/O_2^- و تولید بعدی پراکسی نیتریت، اثرات بیولوژیک محافظتی آن را تغییر داده و منجر به آسیب بافتی اکسیداتیو می‌شود (۲۸). شایان ذکر است که عصاره‌ی *کاپتیس* ریزوم و عناصر فعال آن نظیر پالماتین، پراکسی نیتریت را پاکسازی می‌کند و سلول‌ها را از آسیب ناشی از پراکسی نیتریت محافظت می‌کند (۷). این ترکیب علاوه بر کاهش قابل ملاحظه‌ی قند خون (بدون اثر هایپوگلایسمی در گروه کنترل)، فعالیت کاتالاز، سوپراکسیدار دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد و پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد (۲۹و۲۳). در نهایت می‌توان چنین نتیجه گرفت که پالماتین دارای اثرهیپوگلیسمیک در موش صحرایی دیابتی بوده و از طریق افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش مالون دی آلدئید و نیتریت باعث از بین بردن رادیکال‌های آزاد حاصل از دیابت در موش صحرایی دیابتی می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه زهرا پاک سرشت برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته سلول و تکوین دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین وسیله از همه‌ی عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1- Northam EA, Rankins D, Lin A, et al. Central nervous system function in youth with type 1 diabetes 12 years after disease onset. Diabetes Care. 2009; 32: 445-50.

2- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress− activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β-cell dysfunction. *Diabetes*. 2003; 52: 1-8.

3- Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabetic Stud*. 2010; 7: 15-9.

4- Ahmed RG. The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. *Med J Islamic World Acad Sci*. 2005; 15: 31-42.

5- Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod*. 1989; 41: 183-97.

6- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications of diabetes. *Diabetes*. 1991; 40: 405-12.

7- Cheng, J. Review: drug therapy in chinese

traditional medicine. *J Clin Pharmacol.* 2000; 40: 445-50.

8- Hong JH, Kim MJ, Park of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Chim Acta.* 2004; 340: 107-15.

9- Ulusu NN, Sahilli M, Avci A, et al. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense duriMR, et al. Effects ng peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Eurochem Res.* 2003; 28: 815-23.

10- Pitocco D, Zaccardi F, DistastoI E, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2010; 7: 15-25.

11- Nunes S, Figueiredo I, Soares P, Costa N, Lopes M Caramona M. Semi carbazide-sensitive amine oxidase activity and total nitrite and nitrate concentrations in serum: novel biochemical markers for type 2 diabetes? *Acta Diabetol.*2009; 46: 135-40.

12- Ahmed RG. The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. *Med J Islamic World Acad Sci.* 2005; 15: 31-42.

13- Kaneda Y, Tanaka T, Saw T. Effects of berberine. a plant alkaloid, on the growth of anaerobic protoza in axenic culture. *Tokai J Exp Clin Med.* 1990; 15: 417-23.

14- Hasani-Ranjbar S, Larijani B, Abdollahi M. A systematic review of Iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. *Arch Med Sci.* 2008; 4, 3: 285-92.

15- Sharma B, Salunke R, Balomajumder C, Daniel S, Roy P. Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from Capparis deciduas on diabetic mice. J Ethnopharmacol. 2010; 127: 457-62.

16- Wu DZ, Yuan JY, Shi HL, Hu ZB. Palmatine, a protoberberine alkaloid, inhibits both $Ca2^{+}$ and cAMP-activated Cl^{-} secretion in isolated rat distal colon. *Br J Pharmacol.* 2008; 153: 1203-13.

17- Singh J, Kakkar P. Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2009; 123: 22-6.

18- Birdsall TC, Kelly GS. Berberine: Therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. *Altern Med Rev.* 1997; 2: 94-103.

19- Lee WC, Kim JK, Kang JW, Oh WY, Jung JY, Kim YS. Palmatine attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure in mice. Food and Chemical Toxicology 2010;48: 222–8.

20- Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev.* 2008; 4: 46-54.

21- Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic Biol Med.* 1991; 10: 339-52.

22- Iagodina OV, Nikol'skaia EB, Faddeeva MD. Inhibition of liver mitochondrial monoamine

oxidase activity by alkaloids isolated from Chelidonium and Macleaya and by their derivative drugs. *Tsitologiia*. 2003; 45: 1032-37.

23- Leng SH, Lu FE, Xu LJ. Therapeutic effects of berberine in impaired glucose tolerance rats and its influence on insulin secretion. *Acta Pharmacol Sin*. 2004; 25: 496-502.

24- Chunhua Chen, Yuebo Zhang, Cheng Huang, Berberine inhibits PTP1B activity and mimics insulin action. *Biochem Biophysic Res Comm*. 2010; 397: 543-47

25- Cameron NE, Cotter MA, Jack AM, Basso MD, Hohman TC. Protein kinase C effects on nerve function, perfusion, Na(+),K(+)-ATPase activity and glutathione content in diabetic rats. *Diabetologia*. 1999; 42: 1120-30.

26- Callaghan BC, Hur J, Feldman EL.Diabetic neuropathy: one disease or two? *Curr Opin Neurol*. 2012; 25: 536-41.

27- Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud*. 2010; 7: 15-25.

28- Nunes SF, Figueiredo IV, Soares PJ, Costa NE, Lopes MC, Caramona MM. Semicarbazide-sensitive amine oxidase activity and total nitrite and nitrate concentrations in serum: novel biochemical markersfor type 2 diabetes? *Acta Diabetol*. 2009; 46: 135-40.

29- Mizobuchi N, Nakata H, Horimi T, Takahashi I. Serum superoxide dismutase (SOD) activity in diabetes mellitus. *Rinsho Byori*. 1993; 41: 673-8.

Effect of Palmatine Hydrochloride on Oxidative Stress in Streptozotocin –Induced Diabetic Rats

Pakseresht Z[1], Norouzi P[2], Hojati V[1], Kalalian Moghaddam H[2]

[1]Dept. of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

[2]Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

***Corresponding Author**:* Kalalian Moghaddam H, Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

E-mail: h.kalalian@gmail.com

Received: 30 May 2015 **Accepted:** 10 Apr 2016

***Background and Objective*:** Diabetes as one of the most prevalent and chronic diseases is dramatically increasing worldwide and Iran is no exception. Diabetes mellitus with oxidative stress and overproduction of reactive oxygen species (ROS) can cause metabolic disorders and deactivate the antioxidant defense. Palmatine hydrochloride has anti-diabetic and antioxidant effects among its various pharmacological effects. This study was done to prevent diabetes-induced oxidative stress.

Materials and Methods: In this experimental study, 32 male wistar rats were randomly allocated to 4 groups of control, palmatine-treated non-diabetic, diabetic, and palmatine-treated-diabetic. Diabetes was induced by streptozotocin (STZ) intraperitoneal injection (55mg/kg). Palmatine hydrochloride was administered S.C at the doses of 10 mg/kg/day 1 week after STZ injection for a period of 6 weeks. Blood samples were taken from the tail vein 1,3,5 and 7 weeks after STZ injection to measure blood glucose levels. After the end of the experiment, blood samples were taken from the heart of the mice and glucose, insulin, lipid peroxidation (MDA) nitrite levels and superoxide dismutase activity were evaluated as biomarkers of oxidative stress. Data were analyzed using Prism-5, one-way ANOVA and Tukey tests.

Results: The results revealed that diabetes increases the level of glucose, malondialdehyde, and nitrites while reduces insulin and superoxide dismutase activity in the diabetic mice compared to the control group. Improvement of oxidative stress was evident in palmatine hydrochloride administered diabetic rats.

Conclusion: This study showed that palmatine treatment can reduce blood sugar and oxidative stress in STZ induced diabetic rats.

Keywords: Diabetes, Palmatine, Oxidative Stress, Malondialdehyde