

پتانسیل ضد دیابتی مونوترپن p-Cymene بر میزان فاکتورهای سرمی و سنجش SOD در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با STZ

مریم عربلوئی ثانی^۱، پریچهره یغمایی^{۱*}، زهرا حاج ابراهیمی^{۲*}، نسیم حیاتی رودباری^۳

چکیده

مقدمه: دیابت مشکل جدی در کشورهای با درآمد کم و متوسط است. ارتباط قوی بین هیپرگلیسمی، استرس اکسیداتیو و ایجاد دیابت وجود دارد، لذا غربال‌گری و تشخیص زودرس این بیماری می‌تواند در پیشگیری از این عوارض مؤثر باشد. مسیر اصلی سیگنالینگ انسولین برای کنترل متابولیسم لیپید و گلوکز است و عدم تعادل آن منجر به ایجاد دیابت نوع دو می‌شود. P-Cymene یک مونوترپن معطر با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر p-Cymene در دوز ۵۰ mg/kg در پیشگیری از علائم بیماری دیابت و فاکتورهای سرمی است.

روش‌ها: در این تحقیق، ۳۰ سر موش رت نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰ گرم، به‌طور تصادفی انتخاب و به پنج گروه کنترل، کنترل دیابتی (شم)، دیابتی تیمار شده با متفورمین (met)، غیردیابتی تیمار شده با p-Cymene و دیابتی تیمار شده با p-Cymene تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم القا گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با p-Cymene با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توسط حلال روغن آفتابگردان به مدت ۲۸ روز و به‌صورت گاواژ انجام گردید. در پایان، خون‌گیری و پارامترهای گلوکز، انسولین، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) مورد سنجش قرار گرفت. یافته‌ها: دیابت باعث افزایش مصرف آب و غذا و همچنین سطح گلوکز و کاهش انسولین ($P < 0.001$) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در موش صحرایی گردیده و تجویز عصاره p-Cymene سبب بهبودی علائم دیابت و استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی شد.

نتیجه‌گیری: در حیوانات دیابتی درمان شده با p-Cymene خواص هیپوگلیسمی و هیپولیپیدمی خون مشاهده شده که می‌تواند آسیب کبدی و پانکراس را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: استرپتوزوتوسین، دیابت ملیتوس، SOD، P-Cymene

۱- گروه زیست‌شناسی جانوری- فیزیولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری‌های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی جانوری- سلولی و تکوینی، دانشکده‌ی علوم و فناوری‌های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

* **نشانی:** تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، کدپستی:

۰۱۴۷۷۸۹۳۸۵۵، تلفن: ۰۲۱۴۴۸۶۵۱۷۹-۸۲، پست الکترونیک: yaghmaei_p@srbiau.ac.ir

مقدمه

دیابت نوع دو (Diabetes mellitus type 2) شایع‌ترین و از نظر بالینی مهم‌ترین اختلال متابولیک است که در دهه‌های اخیر به یک بیماری همه‌گیر جهانی در سراسر جهان تبدیل شده و بار عمده‌ی مراقبت‌های بهداشتی را به خود اختصاص داده است. در سال ۲۰۱۳، حدود ۳۸۲ میلیون بیمار مبتلا به دیابت در سطح جهانی گزارش شده است [۱]. بروز T2D همچنان در حال افزایش است و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۵ بیش از ۵۹۰ میلیون بیمار مبتلا به این بیماری تشخیص داده خواهد شد [۲]. سازمان جهانی بهداشت (WHO) دیابت را به عنوان اختلال متابولیک چند اتیولوژی که با هیپرگلیسمی مزمن همراه با اختلال کربوهیدرات، چربی و پروتئین ناشی از نقص در ترشح انسولین، فعالیت انسولین و یا هر دو ناشی می‌شود بیان کرده است [۳]. شایع‌ترین شکل دیابت، دیابت نوع دو است که تخمین زده می‌شود ۹۰ درصد بیماران دیابتی با این فرم تشخیص داده می‌شوند و ۱۰ درصد باقی مانده، دیابت نوع یک (Diabetes mellitus type 1) را دارند، اگرچه انواع نادر دیگری نیز وجود دارد [۴]. دیابت نوع دو که اغلب دیابت غیر وابسته به انسولین نیز نامیده می‌شود، با کاهش پیشرونده حساسیت بافت‌های محیطی به عملکرد انسولین و اختلال در عملکرد سلول‌های β پانکراس شناخته می‌شود [۵].

از مشخصات دیابت افزایش میزان قندخون، تشنگی غیر عادی، گرسنگی شدید، تکرر ادرار، کاهش وزن، خستگی شدید و تاری دید است [۶]. طبق مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباطی قوی بین افزایش قند خون و عوارض دیابت وجود دارد [۷]، که این عوارض از جمله مشکلات قلبی-عروقی و کلیوی باعث کاهش کیفیت زندگی خواهد شد [۸]. ننگ داشتن سطح قندخون در حد نرمال به جلوگیری از عوارض دیابت یا تأخیر در ایجاد آنها کمک می‌نماید.

هیپرگلیسمی مزمن می‌تواند ضایعات فراوان و جبران‌ناپذیری را در چشم‌ها، اعصاب، کلیه‌ها، قلب و عروق و سایر اعضای بدن از جمله کبد به وجود آورد [۹]. کبد، اندامی مؤثر در حفظ و برقراری سطح گلوکز خون در محدوده‌ی طبیعی بوده و افزایش قند خون منجر به عدم تعادل در واکنش‌های اکسیداسیون احیا در درون هپاتوسیت‌ها می‌شود؛ به این صورت که هیپرگلیسمی از طریق افزایش تولید AGEs (Advanced glycation end-product) در تسهیل تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اختلال در تولید زداينده‌های سوپراکسید مثل ROS می‌شود. بدین ترتیب مشخص می‌شود که آسیب دیابتی

کبد توسط فاکتورهای متعددی ایجاد شده و تنها با مهار هیپرگلیسمی قابل کنترل نیست. SOD مهم‌ترین آنزیم مهاري اکسیداتیو شناخته شده هست که در بیشتر ارگانيسم‌های هوازی وجود دارد و سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن در فضای سیتوپلاسمی تبدیل می‌کند و ممکن است از DNA و اندامک‌های درون سلولی در برابر صدمات ناشی از واسطه‌های اکسیژن فعال محافظت کند. بنابراین در حیوانات دیابتی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کاهش می‌یابد [۱۰]. شواهد اخیر نشان می‌دهد که توجه به درمان‌های گیاهی برای بهبود دیابت بسیار مهم است. گیاهان غالباً حاوی مقادیر قابل توجهی آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله توکوفرول، ویتامین E، کاروتنوئیدها، اسید اسکوربیک، ویتامین C، فلاونوئیدها و تانن‌ها هستند و توصیه شده که عمل آنتی‌اکسیدانی این گیاهان ممکن است یک خاصیت اساسی و مهم در درمان دیابت باشد [۱۱]. داروهای خوراکی کاهنده‌ی قندخون از انواع اولیه درمان دیابت هستند ولی متأسفانه استفاده از آنها باعث درمان قطعی نشده و دارای آثار جانبی نیز هستند [۱۲]، همچنین تهیه این داروها هزینه‌بر بوده و دسترسی به آنها برای برخی از جوامع، مخصوصاً در کشورهای در حال توسعه آسان نیست، بنابراین نیاز به درمان‌هایی از نوع دیگر مانند درمان‌های گیاهی احساس می‌شود.

در دهه‌های اخیر تحقیقات روی گیاهانی که به صورت سستی برای درمان دیابت به کار رفته، خواص ضد دیابتی آنها را نشان داده و برخی از این گیاهان نیز طبق معیارهای علمی معتبر شناخته شده‌اند از جمله این گیاهان می‌توان به پیاز *Allium cepa* [۱۳]، سیر *Allium sativum* [۱۴]، آلورا ورا *Aloe vera* [۱۵]، نوعی کدو *coccinia indica* [۱۶]، دارچین *Cinnamomi cassia* [۱۷]، زرشک زرافشان *Integerrima Berberis* [۱۸] اشاره کرد.

مونوترپن‌ها یک گروه مهمی از متابولیت‌های ثانویه هستند که به خانواده ترپنوئیدها تعلق دارند در واقع این ترپنوئیدها از فراورده‌های طبیعی بوده و طیف وسیعی از فعالیت‌های سلولی و مولکولی را در بر داشته و شاخص‌های مثبت درمانی آنها به اثبات رسیده است [۱۹]. علاوه بر این کم هزینه بودن، در دسترس بودن، عوارض جانبی نامطلوب کم و ایمن بودن مشخصه بارز این گروه بوده و می‌توان از آنها به عنوان عوامل جدید و مؤثر برای درمان دیابت استفاده کرد، به عنوان مثال تیمول و کارواکرول از ترکیبات رایج غذایی بوده که اثرات نامطلوب ندارند [۲۰]. امروزه با تحقیقات گسترده‌ای که روی

در شروع آزمایش به مدت ۱۲ ساعت غذا از دسترس حیوانات خارج شده و سپس استرپتوزوتوسین (ساخت Germany, Sigma) در بافر سیترات و PH=4/5 با تک دوز درون صفاقی ۵۵mg/kg تزریق شد. پس از یک هفته با اندازه گیری سطح قندخون توسط دستگاه گلوکومتر (Germany-Accu Chek Active) صحت القای دیابت بررسی شد. حیواناتی که سطح قند خونشان بیش از ۲۰۰mg/dl بود به عنوان دیابتی شناخته شدند.

گروه‌های آزمایش

حیوانات به ۵ گروه ۶ تایی به صورت زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (C): حیوانات سالم که به مدت ۴ هفته آب و غذای کافی در اختیار داشتند. گروه شم (D): رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (۵۵ mg/kg) که به مدت ۴ هفته آب و غذای کافی دریافت کردند. گروه Met: رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بودند که داروی متفورمین (۵۵ mg/kg) را به مدت ۴ هفته دریافت کردند. گروه (C50): رت‌های سالم که p-Cymene را با دوز ۵۰ mg/kg با حلال آن (روغن آفتابگردان) به مدت ۴ هفته گاوژ کردند و در نهایت گروه (D50): رت‌های دیابتی که p-Cymene را با دوز ۵۰ mg/kg با حلال آن (روغن آفتابگردان) به مدت ۴ هفته و به صورت گاوژ دریافت کردند. این دوزها با توجه به نتایج تحقیق Oliveira در سال 2015 انتخاب شدند [۲۵]. مدت آزمایش بدون احتساب یک هفته انتظار برای اطمینان از دیابتی شدن، ۴ هفته در نظر گرفته شد. در این آزمایش نیز وزن رت‌ها هفته به هفته اندازه‌گیری شد.

آزمون‌های بیوشیمیایی

پس از اتمام دوره‌ی آزمایش، حیوانات با اتر بیهوش شده، از قلب هر رت حدود ۲ سی‌سی خون گرفته و در لوله‌ی آزمایش ریخته شد. نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و نمونه‌های سرم به دست آمدند. سطح گلوکز خون با روش آنزیمی، با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون، ساخت ایران و به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد. سطح انسولین خون با استفاده از کیت انسولین خاص رت، مربوط به شرکت ALPCO (کشور سازنده، آمریکا) و به روش الیزا به دست آمد. سطح SOD خون نیز با استفاده از کیت Nasdox™-Superoxide Dismutase Assay Kit- Non Enzymatic ساخت شرکت نوند سلامت (کشور سازنده، ایران) اندازه‌گیری شد.

مونوترپن‌های طبیعی و مشتقات مصنوعی آنها انجام شده می‌توان به حجم وسیعی از اقدامات فارماکولوژیک آنها از جمله خواص ضد دیابتی، هیپوکلسترول، آنتی اکسیدان، اثرات ضد باکتری، ضد التهابی و ضد سرطانی، آنتی هسیتامین و ضد درد را مشاهده نمود در این بین اثرات درمانی بالقوه مونوترپن‌ها در درمان دیابت برجسته‌تر است [۲۱]. یکی از ترکیبات مؤثر مهم استخراج شده مونوترپن‌ها از برخی گیاهان p-Cymene است که بنابر گزارش‌ها می‌توان آن را در بیش از ۱۰۰ اسانس و یا عصاره‌ی گیاهی مختلف مشاهده نمود. p-Cymene با نام شیمیایی 4-Isopropyltoluene و وزن مولکولی ۱۳۴/۲۲ گرم بر مول یک ترکیب هیدروکربنی مونوترپنی است [۲۲]. ساختار آن شامل یک حلقه‌ی بنزنی با گروه متیل و یک گروه ایزوپروپیل است. این ترکیب در آب به خوبی حل نمی‌شود. اما می‌توان آن را در اتانول و ترکیبات دیگر نظیر بنزن و استون حل نمود. p-Cymene یک ترکیب بدون رنگ و بو دار است که به عنوان چاشنی هم می‌توان از آن استفاده نمود [۲۳]. این ترکیب توانایی جذب بالایی از پوست دارد. تاکنون اثرات فیزیولوژیک و فارماکولوژیک مختلفی از این ترکیب گیاهی گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به اثر آن بر کاهش آسیب القاء شده توسط لیپوپولی ساکارید در شش‌ها اشاره نمود که این عمل را از طریق کاهش سیتوکین‌های پیش التهابی نظیر TNF- α , IL-1 β و IL-6 و نیز مهار کردن مسیر سیگنالینگ فسفوریلاسیون پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوزن (MAPK) برجای می‌گذارد [۲۴]. تحقیق حاضر به منظور مطالعه‌ی خاصیت p-Cymene در کاهش علائم موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شده است.

روش‌ها

از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰ گرم، که از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد خریداری شد استفاده گردید. حیوانات در شرایط دمایی ۲۲±۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۵-۵۵ درصد و ۱۲ ساعت نور- ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده و آزادانه به آب و غذای مخصوص دام دسترسی داشتند. به رت‌ها اجازه داده شد به مدت یک هفته با شرایط سازگار شوند، سپس به طور تصادفی به گروه‌های تجربی تقسیم شدند.

القای دیابت

آنالیز آماری

پس از اخذ و ثبت اطلاعات و جمع بندی برای تحلیل آماری، تمامی داده‌ها از نظر آماری با استفاده از نرم افزار SPSS، با ورژن ۲۱ آنالیز و واریانس یک طرفه (one way-ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای بررسی تفاوت میان میانگین‌ها در گروه‌های مختلف، از آزمون TUKEY در سطح معنی داری ($P < 0/05$) استفاده گردید. نتایج به صورت $Mean \pm ESM$ ارائه گردید و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ورژن ۲۰۱۳ ترسیم شد.

یافته‌ها

تأثیر استفاده از p-Cymene بر تغییرات وزن

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از p-Cymene به مدت ۲۸ روز و با میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش معنی داری وزن در همه‌ی گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل گردیده به طوری که حیوانات دریافت کننده‌ی p-Cymene در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش وزن معنی داری ($P < 0/001$) را نشان می دهند (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تغییرات وزنی در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
گروه کنترل (C)	۲۷۵±۱۵	۲۷۲±۱۱	۲۷۰±۱۸	۲۷۰±۲۳
گروه شم	۲۷۸±۱۳	۲۸۶±۲۲	۳۰۲±۱۴	۳۱۹±۱۸***#
گروه متفورمین	۲۶۴±۱۸	۲۶۹±۱۴	۲۷۵±۱۶#	۲۷۸±۱۹##
گروه C۵۰	۲۴۳±۲۰	۲۵۱±۲۳*#	۲۷۴±۲۰*#	۲۷۹±۳۰***#
گروه D۵۰	۲۵۰±۱۸	۲۷۵±۱۹#	۲۸۴±۱۴##	۲۹۱±۱۲***###

Control $P < 0/001$ ***, $P < 0/01$ ** , $P < 0/05$ *
 Met $P < 0/001$ ***, $P < 0/01$ ** , $P < 0/05$ *
 P<0.001###, P<0.01##, P<0.05#

تأثیر استفاده از p-Cymene بر میزان گلوکز خون

میزان گلوکز سرم در گروه‌های تیمار شده با p-Cymene در گروه D50 کاهش معنی داری ($P < 0/001$) را نسبت به گروه کنترل نشان می دهد و همچنین اختلاف معنی داری آن نسبت به سایر گروه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

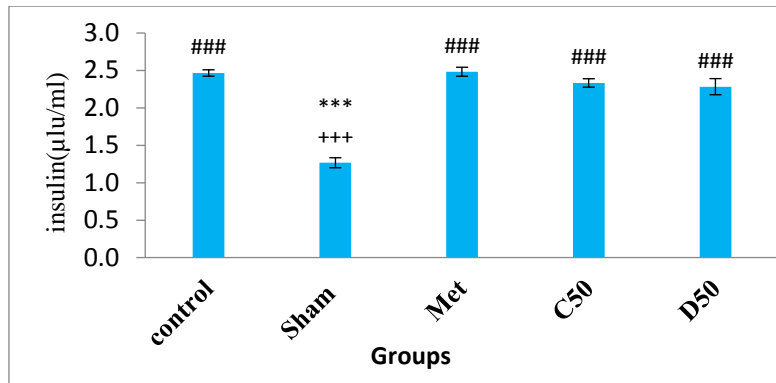
تأثیر استفاده از p-Cymene بر میزان انسولین سرم

مطابق نمودار ۱ تیمار موش با p-Cymene در گروه D50 نسبت به گروه شم افزایش معنی داری ($P < 0/001$) را نشان می دهد این اختلاف همچنین در گروه‌های دیگر نیز مشاهده می شود.

جدول ۲- نتایج تغییرات گلوکز در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
گروه کنترل	۱۳۷/۲±۹/۷	۱۴۱/۵±۲۳/۱	۱۵۰±۲۸	۱۵۶/۵±۱۱/۸###
گروه شم	۲۱۶/۲±۳۴/۲*	۲۵۶/۵±۲۶/۵***++	۳۰۲±۱۴***++	۳۱۷±۱۸/۰۱***+++
گروه متفورمین	۲۲۰±۲۹/۹۹*	۲۰۹±۱۴	۱۹۸/۵±۲۵/۵#	۱۶۱±۱۸/۸۸###
گروه C۵۰	۱۷۹/۵±۱۱/۳۵*	۱۸۱/۳±۱۹/۵**	۱۸۸/۴±۲۰/۳*	۱۹۵±۲۶/۹۷*
گروه D۵۰	۳۳۰/۱۷±۶۳/۱۸***###	۲۹۱/۵±۲۴/۳***###	۲۴۶/۸±۲۳/۸***#	۲۰۳±۲۰/۲۳***

Control $P < 0/001$ ***, $P < 0/01$ ** , $P < 0/05$ *
 Met $P < 0/001$ ***, $P < 0/01$ ** , $P < 0/05$ *
 P<0.001###, P<0.01##, P<0.05#



نمودار ۱- نمودار تغییرات انسولین سرم در گروه‌های مورد مطالعه در ۲۸ روز

Control از گروه اختلاف $P < 0.001^{***}$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.05^*$

Met از گروه اختلاف $P < 0.001^{+++}$, $P < 0.01^{++}$, $P < 0.05^+$

Sham از گروه اختلاف $P < 0.001^{###}$, $P < 0.01^{##}$, $P < 0.05^{\#}$

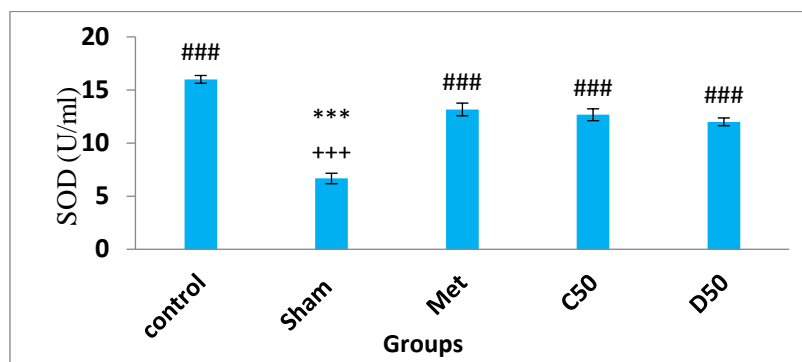
هرگونه ضایعه خاصی بود و تمامی ساختار پانکراس به شکل واضح و آشکاری قابل شناسایی بود. جزایر لانگرهانس به وضوح و در اندازه نرمال دیده می‌شود عروق پانکراس هم در اندازه طبیعی مشاهده می‌شود (شکل ۱) ولی در گروه شم جزایر تحلیل رفته است (شکل ۲). در گروه Met جزایر لانگرهانس در اندازه نرمال قابل مشاهده است (شکل ۳). در گروه C50 اندازه ی جزایر کمی بزرگتر ولی بافت خود را کاملاً حفظ کرده است (شکل ۴). همچنین در گروه D50 جزایر از حالت تحلیل خارج شده و به اندازه ی گروه کنترل نزدیک شده است. این نتایج در شکل ۵ به وضوح دیده می‌شود.

تأثیر استفاده از p-Cymene بر میزان SOD سرم

نمودار ۲ نشان می‌دهد که در گروه D50 افزایش معنی‌داری $P < 0.001$ نسبت به گروه شم وجود دارد این اختلاف همچنین در گروه‌های دیگر نیز قابل رویت بود که نشان از تأثیر مثبت استفاده از p-Cymene در بهبود میزان SOD است.

نتایج بررسی‌های بافت شناسی پانکراس (با استفاده از رنگ آمیزی اختصاصی دیتیزون DTZ)

در برش بافتی از پانکراس موش‌های کنترل هیچ‌گونه تغییرات بافتی قابل توجهی مشاهده نشد. پانکراس این گروه سالم و فاقد

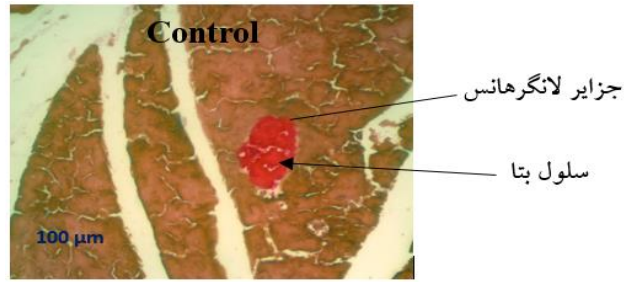


نمودار ۲- نمودار تغییرات SOD در گروه‌های مورد مطالعه در ۲۸ روز

Control از گروه اختلاف $P < 0.001^{***}$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.05^*$

Met از گروه اختلاف $P < 0.001^{+++}$, $P < 0.01^{++}$, $P < 0.05^+$

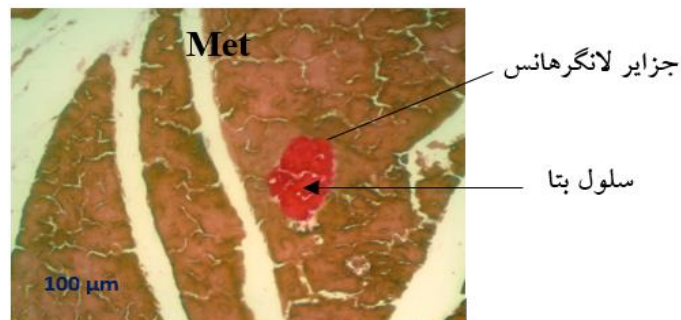
Sham از گروه اختلاف $P < 0.001^{###}$, $P < 0.01^{##}$, $P < 0.05^{\#}$



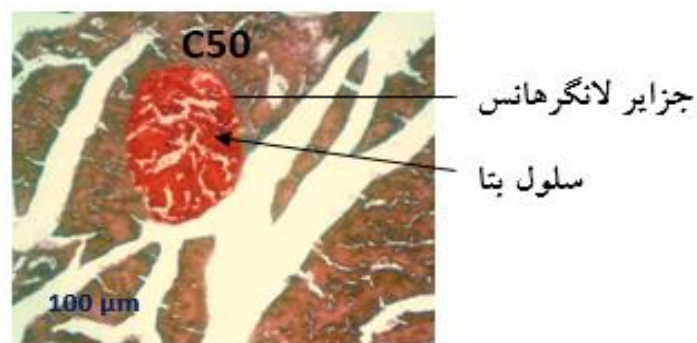
شکل ۱- بررسی بافت شناسی پانکراس با رنگ آمیزی DTZ در گروه کنترل با بزرگنمایی 100um



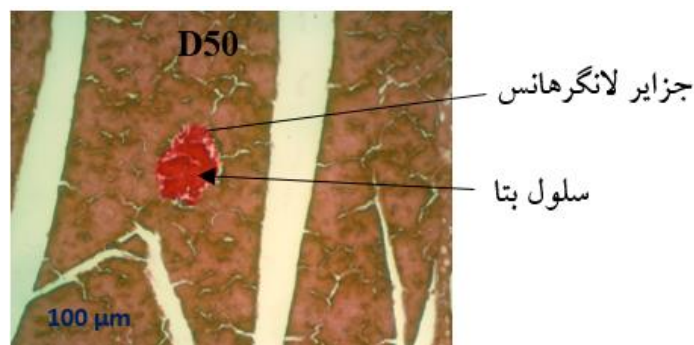
شکل ۲- بررسی بافت شناسی پانکراس با رنگ آمیزی DTZ در گروه دیابت با بزرگنمایی 100um



شکل ۳- بررسی بافت شناسی پانکراس با رنگ آمیزی DTZ در گروه مت با بزرگنمایی 100um



شکل ۴- بررسی بافت شناسی پانکراس با رنگ آمیزی DTZ در گروه C50 با بزرگنمایی 100um



شکل ۵- بررسی بافت شناسی پانکراس با رنگ آمیزی DTZ در گروه D50 با بزرگنمایی 100um

یک اثر بالقوه مثبت در درمان دیابت داشته و می‌توان از آن برای بررسی مدل‌های دیابتی استفاده کرد [۲۸].

در پژوهش حاضر میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش داشته اما نمونه‌های تیمار شده با p-Cymene به مدت ۴ هفته سبب کاهش معنی‌دار در سطح گلوکز و افزایش انسولین و سوپراکسید دیسموتاز گردید که نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت p-Cymene است. بنابراین نتایج حاضر با تحقیقات Sangi و همکاران هم‌راستا است [۲۹]. عوامل مختلفی در تولید و افزایش رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی شناخته شده‌اند و یکی از مهم‌ترین این عوامل، هیپرگلیسمی است که از چندین مسیر باعث افزایش اکسیداسیون گلوکز شده، منجر به تولید رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌شود سطوح برخی پرواکسیدان‌ها مثل فریتین و هموسیستین در دیابت افزایش می‌یابد [۳۰]. ارتباط مشخصی بین سطوح هموسیستین و لیپید پراکسیداسیون در بیماران دیابتی وجود دارد و احتمالاً هموسیستین از طریق سیستم‌های مرتبط با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، در ایجاد آسیب عروقی در دیابت مؤثر است. همچنین رابطه‌ی مستقیم میان کنترل ضعیف گلوکز و عوارض دیگر دیابت همچون رتینوپاتی و نفروپاتی نشان داده شده است و در مقابل کنترل دقیق گلوکز خون منجر به تأخیر در بروز عوارض میکرواسکولار می‌گردد [۳۱].

در بیماری دیابت، تعادل میان آنتی‌اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد از بین رفته است و با توجه به افزایش اکسیدان‌ها در بدن، روند ایجاد عوارض دیابت تسریع شده است [۳۲]. سازکارهای گوناگونی برای از بین بردن و کاهش رادیکال‌های آزاد در نظر گرفته شده است، از جمله پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلفی که باعث تخریب رادیکال‌های آزاد می‌گردند [۳۳]. سطوح پایین آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله اسکوربات و گلوکاتایون و

بحث و نتیجه‌گیری

دیابت یکی از جدی‌ترین بیماری‌های متابولیکی است که در جهان به سرعت در حال گسترش است شناخت هر چه بهتر این بیماری متابولیکی می‌تواند به درمان سریع آن کمک کند. امروزه از داروهای شیمیایی برای درمان یا تخفیف علائم دیابت استفاده می‌شود که دارای عوارض جانبی نیز هستند، از این‌رو استفاده از گیاهان دارویی و ماده‌ی مؤثره آنها روزبه‌روز در حال توسعه و گسترش است. در طب سنتی از عصاره‌ی گیاهان متعددی برای کاهش قند خون استفاده می‌شود [۲۶]. در پژوهش حاضر نیز از عصاره‌ی گیاهی p-Cymene استفاده گردیده که از خانواده‌ی مونوتیرپن‌ها است این عصاره در بیشتر گیاهان از جمله بابونه، مریم‌گلی و میخک یافت شده و به راحتی قابل دسترسی است. محققان دریافته‌اند که درمان دیابت با داروی متفورمین در کنار گیاهان دارویی منجر به کاهش قابل توجهی از سطح قند خون در حیوانات تحت درمان شده، که با کاهش ۲۰ درصدی گلوکز و سرکوب تولید آن در کبد همراه است، همچنین می‌تواند منجر به کاهش ۲۵-۳۰ درصدی غلظت گلوکز پلاسمای ناشتا گردد [۲۷].

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف p-Cymene سبب کاهش گلوکز و افزایش وزن موش‌های صحرایی نژاد ویستار دیابتی گردیده، نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج دانشمندان که نشان دادند مصرف p-Cymene با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در هیپوکامپ موش صحرایی اثر معناداری بر کاهش سطح گلوکز و چربی‌های خون در بیماران دیابتی نوع دو دارد مطابقت دارد [۲۱].

همچنین در گزارش دیگر مشخص شد که p-Cymene ترکیب آن با متفورمین در درمان دیابت مؤثر بوده در این راستا p-Cymene می‌تواند

توسعه‌ی درمان برای بسیاری از بیماری‌هایی که در آنها استرس اکسیداتیو نقش مهم پاتوفیزیولوژیکی دارد بازی کند [۲۵]. همچنین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد درد، ضد التهاب، ضد اضطراب، ضد سرطان و ضد میکروب این ترکیب در شرایط *in vivo* روی سیستم‌های آزمایشی مدل حیوانی (موش نر بالغ سوئسی) نشان داد که p-Cymene فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش می‌دهد و باعث کاهش اکسیداتیو می‌شود [۳۶]. در پژوهش حاضر نیز استفاده از cymene باعث بهبود میزان آنزیم SOD در مقایسه با گروه دیابتی گردید که نشان از تأثیر مثبت استفاده از عصاره برای بهبود علائم ناشی از دیابت می‌گردد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که p-Cymene به واسطه‌ی تأثیر و افزایش میزان آنزیم‌های مؤثر آنتی‌اکسیدانی، کاهش قندخون، افزایش میزان هورمون انسولین در موش‌های دیابتی نوع دو در راستای کاهش اثرات منفی دیابت عمل می‌کند و عوارض ناشی از این بیماری را کاهش می‌دهد و بهبود می‌بخشد. به دلیل شیوع بیماری دیابت و اثرات مخربی که در سلامت و سبک زندگی فرد بیمار می‌گذارد مشتقات مونوترپن از جمله p-Cymene احتمالاً می‌تواند در آینده گزینه‌ی مناسبی برای کاهش اثرات دیابت باشد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از رساله‌ی دکتری زیست‌شناسی جانوری دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران است.

سوپر اکسید دیسموتاز در دیابتی‌ها مشاهده می‌شود [۳۴]. دانشمندان در گزارش‌های اخیر خود اذعان کردند که p-Cymene با بهبود ساختار فلور روده از سرطان روده‌ی بزرگ که مرتبط با رژیم غذایی پُرچرب است جلوگیری می‌کند و به دنبال آن می‌توان اثرات ضد التهابی و ضد دیابتی و ضد آنتی‌لیپیدی با مصرف p-Cymene با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را در موش‌های نژاد ویستار مشاهده کرد [۳۴]. در یک مطالعه‌ی دیگر نشان داده شد که مونوترپن‌ها قادر خواهند بود به‌طور قابل توجهی فعالیت SOD و کاتالاز را افزایش دهد [۳۵]. در پژوهش حاضر نیز استفاده از p-Cymene که از گروه مونوترپن‌ها است به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان بالقوه برای تعدیل آنزیمی فعالیت پراکسید هیدروژن خواهد بود. این اثر وابسته به دوزهای مختلف cymene در داخل بدن ارزیابی شده است.

درمان با p-Cymene به‌طور قابل توجهی باعث کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش تشکیل گونه‌های واکنش‌پذیر مشتق شده از اکسیژن و نیتروژن شده و منجر به افزایش فعالیت SOD خواهد شد که این نقش آنتی‌اکسیدانی ممکن است به دلیل مدولاسیون مثبت فعالیت این آنزیم باشد [۲۵]. بنابراین، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که p-Cymene در درمان دیابت که در آن استرس اکسیداتیو نقشی ذاتی در فیزیولوژی بیماری دارد دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در داخل بدن است و یک راهبرد جدیدی را در درمان بیماری تشکیل می‌دهد، با این حال لازم است مطالعات بیشتری در این خصوص انجام شود.

در یک مطالعه‌ی دیگر نشان دادند که p-Cymene دارای آنتی‌اکسیدان بالقوه در داخل بدن است و ممکن است به‌عنوان یک عامل محافظت از نور در مغز عمل کند. این ترکیب می‌تواند یک راهبرد جدید در

مآخذ

- Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 103:137-149.
- Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba CB. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol Pathophysiol* 2013; 4:46-57.
- Thompson A, Kanamarlapudi V. Type 2 Diabetes mellitus and glucagon like peptide-1 receptor signalling. *Clin Exp Pharmacol*. 2013; 3:1-18.
- Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Chapter 1: epidemiology of Type 1 Diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39: 481-497.
- Saisho Y. β -cell dysfunction: Its critical role in prevention and management of type 2 diabetes. *World J Diabetes* 2015; 6:109-124.
- Kumar A, Suresh K. Diabetes Mellitus: A stitch in time saves Nine Early Diagnosis and Management minimizes complications- A Case Study. *Glob J Obes Diabetes Metab Syndr* 2021; 8: 014-017.

7. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Phys Ther* 2008; 88: 1254-1264.
8. Thomas R, Kanso A, Sedor JR. Chronic kidney disease and its complications. *Prim Care* 2008; 35: 329-344.
9. Mohamed J, Nazratun Nafizah AH, Zariyantey AH, Budin SB. Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2016; 16: 132-41.
10. Donadon V, Balbi M, Mas MD, Casarin P, Zanette G. Metformin and reduced risk of hepato-cellular carcinoma in diabetic patients with chronic liver disease. *Liver Int* 2010; 30: 750-8.
11. Ukkola O, Erkkilä PH, Savolainen MJ, Kesäniemi YA. Lack of association between polymorphisms of catalase, copper-zinc superoxide dismutase (SOD), extracellular SOD and endothelial nitric oxide synthase genes and macroangiopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Intern Med* 2001; 249: 451-9.
12. Sudha P, Zinjarde SS, Bhargava SY, Kumar AR. Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complement. Altern. Med* 2011; 11: 5-15.
13. Romanramos R, Floressaenz JL, Alarconaguilar FJ. Antihyperglycemic effect of some edible plants. *J Ethnopharmacol* 1995; 48: 25-32.
14. Zacharias NT, Sebastian KL, Philip B, Augusti KT. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of garlic in sucrose fed rabbits. *Indian J Physiol Pharmacol* 1980; 24: 151-4.
15. Ghannam N, Kingston K, Almeshaal IA, Tariq M, Parman NS, Woodhouse N. The antidiabetic activity of aloe preliminary clinical and experimental observations. *Horm Res* 1986; 24: 288-94.
16. Dhanabal SP, Koata CK, Ramnathan M. The hypoglycemic activity of *Coccinia indica* and its influence on certain biochemical parameters. *Indian J Pharmacol* 2004; 36: 249-50.
17. Jarvulltaylor KJ, Anderson RA, Graves DJ. A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 327-36.
18. Ashraf H, Heidari R, Nejati V, Ilkhanipoo M. Preventive effect of berberis integerrima on the serum levels of glucose and lipids in Streptozotocin induced diabetes in Rats. *J Fums* 2012; 2: 148-55.
19. Bergman ME, Davis B, Phillips MA. Medically Useful Plant Terpenoids: Biosynthesis, Occurrence, and Mechanism of Action. *Molecules* 2019; 24: 3961-85.
20. Habtemariam S. Antidiabetic Potential of Monoterpenes: A Case of Small Molecules Punching above Their Weight. *Int J Mol Sci* 2017; 19: 4-27.
21. Al Kury LT, Abdoh A, Ikbariah K, Sadek B, Mahgoub M. In Vitro and In Vivo Antidiabetic Potential of Monoterpenoids: An Update. *Molecules*. 2022; 27: 182-205.
22. Eaton RW. P-Cymene catabolic pathway in *Pseudomonas putida* F1: cloning and characterization of DNA encoding conversion of p-cymene to p-cumate. *Journal of bacteriology* 1997; 179: 3171-80.
23. Montonen J, Knekt P, Järvinen R, Reunanen A. Dietary antioxidant intake and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 362-6.
24. Fragoso V, do Nascimento NC, Moura DJ, e Silva ACR, Richter MF, Saffi J, et al. Antioxidant and antimutagenic properties of the monoterpene indole alkaloid psychollatine and the crude foliar extract of *Psychotria umbellata* Vell. *Toxicology in Vitro* 2008; 22: 559-66.
25. Oliveira TM, Carvalho RB, Costa IH, Oliveira GA, Souza AA, Lima SG, et al. Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant. *Pharm Biol* 2015; 53: 423-8.
26. Chaudhury A, Duvoor C, and Reddy Dendi VS, et al. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 8: 1-12.
27. Stumvoll M, Nurjhan N, Perriello G, Dailey G, Gerich JE. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1995 Aug 31; 333: 550-4.
28. Lotfi P, Yaghmaei P, Ebrahim-Habibi A. Cymene and Metformin treatment effect on biochemical parameters of male NMRI mice fed with high fat diet. *J Diabetes Metab Disord* 2015; 14: 52-57.
29. Sangi SM, Sulaiman MI, El-Wahab MF, Ahmedani EI, Ali SS. Antihyperglycemic effect of thymoquinone and oleuropein, on streptozotocin-induced diabetes mellitus in experimental animals. *Pharmacogn Mag* 2015; 11: 251-257.
30. Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2015; 6: 456-80.
31. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 29-38.
32. Hsueh WA, Law RE. Cardiovascular risk continuum: implications of insulin resistance and diabetes. *Am J Med* 1998; 105: 4-14.
33. Gopaul NK, Anggard EE, Mallet AI, Betteridge DJ, Wolff SP, Nourooz-Zadeh J. Plasma 8-epi-PGF2 alpha levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett* 1995; 368: 225-9.
34. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23: 599-622.
35. Jin H, Leng Q, Zhang C, Zhu Y, Wang J. P-cymene prevent high-fat diet-associated colorectal cancer by improving the structure of intestinal flora. *J Cancer* 2021; 12: 4355-4361.
36. Ola OS, Sofolahan TA, A monoterpene antioxidant, linalool, mitigates benzene-induced oxidative toxicities on hematology and liver of male rats Egypt. *J Basic Appl. Sci* 2021; 8: 39-53
37. Wang S, Wang X, Wang YU, Leng Q, Sun YU, Hoffman RM, Jin H. The Anti-oxidant Monoterpene p-Cymene Reduced the Occurrence of Colorectal Cancer in a Hyperlipidemia Rat Model by Reducing Oxidative Stress and Expression of Inflammatory Cytokines. *Anticancer Res* 2021; 41: 1213-1218.

The Anti-Diabetic Potential Of P-Cymene Monoterpene on Serum Factor Levels and SOD Assay in STZ-Diabetic Male Rats

Maryam Arabloei Sani¹, Parichehreh Yaghmaei^{1*}, Zahra Hajebrahimi^{2*}, Nasim Hayati Roodbari³

1. Department of Physiology Animal Biology, college of convergent sciences and Technologies, Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran

3. Department of Cellular and Developmental Animal Biology, college of convergent sciences and Technologies, Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Diabetes is a serious public health problem in low- and middle-income countries. There is a strong association between hyperglycemia, oxidative stress and the development of diabetes. Therefore, screening and early diagnosis of this disease in people at high risk can be effective in preventing these complications. The main route of insulin signaling is to control lipid and glucose metabolism, and its imbalance leads to type 2 diabetes. P-Cymene is an aromatic monoterpene with a wide range of therapeutic properties including antioxidant activity. The aim of this study was to evaluate the effect of p-Cymene at a dose of 50 mg / kg in preventing the symptoms of diabetes and serum factors.

Methods: In this study, 30 male Wistar rats weighing approximately 250 g were randomly selected and divided into five groups: control, diabetic control (sham), metformin-treated diabetic (met), and non-diabetic treated. P-Cymene and diabetics treated with P-Cymene were divided. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin at a dose of 55 mg / kg. One week after streptozotocin injection, treatment with P-Cymene at a dose of 50 mg / kg was performed by sunflower oil solvent for 28 days by gavage. At the end of the experiment, blood samples were taken from the hearts of rats and the parameters of glucose, insulin, and superoxide dismutase (SOD) were measured.

Results: The results showed that diabetes increased water and food intake as well as glucose levels and decreased insulin ($P < 0.001$) and superoxide dismutase activity in rats and administration of P-Cymene extract improved the symptoms of diabetes and oxidative stress in Became diabetic rat.

Keywords: Streptozotocin, Diabetes mellitus, SOD, P-Cymene

* Islamic Azad University, Science and Research Branch, The end of Sattari Highway, Daneshgah Square, Shohadaye Hesarak blvd, Tehran, Iran. Postal Code: 1477893855. Tel: +9844865179-82, Email: yaghmaei_p@srbiau.ac.ir

