ORIGINAL ARTICLE

Effect of Hydroalcoholic Extract of Cynodon Dactylon on Clinical and Histopathological Aspects and Leukocyte Infiltrations of Pancreas in Experimental Autoimmune Diabetes in C57BL/6 Mice

Samad Zare[1],
Seyyed Meysam Abtahi Froushani[2],
Hadi Esmaeili Gouvarchin Ghaleh[3],
Bahman Mansori Motlagh[4]

[1] Professor, Afagh Higher Education Institue, Urmia, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
[3] PhD Student in Immunology, Faculty of Veterinary Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
[4] MSc in Immunology, Faculty of Veterinary Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

(Received July 29, 2015 Accepted Septembe 28, 2015)

Abstract

Background and purpose: Type I diabetes is an autoimmune disease. Nowadays, there is increasing interest in natural products for the treatment of diabetes. This study was done to investigate the effect of hydroalcholic extract of *Cynodon dactylon* on the biochemical aspects and histopahtological changes of pancreas in experimental autoimmune diabetes in C57bl/6 mice.

Materials and methods: After stabilization of diabetes, mice were allocated in three therapeutic groups (n=10 per group) and orally treated with hydroalcholic extract of *C. dactylon* (100, 200 and 400 mg/Kg) for two constitutive weeks. The mice were euthanized at day 14 post streptozotocin administration and pancreases were collected and applied for histopathology. Furthermore, the levels of serum fasting blood sugar, triglyceride and cholesterol level were measured in 7 and 14 days after final streptozotocin dose. Nonparametric data (histopathological scores) were compared by Mann-Whitney U-test. Other parametric data were analyzed using the one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test.

Results: The results indicated a significant decrease in the levels of fasting blood glucose, triglyceride and cholesterol compared to control group. Moreover, treatment with *C. dactylon* significantly decreased the levels of leukocyte infiltration in the treatment group compared to diabetes mice without treatment.

Conclusion: It seems that hydroalcholic extract *C. dactylon* may have a therapeutic effect against destruction of βeta cells and insulitis in the animal model of type I diabetes. Thus, it may be a promising strategy to control this disease in human.

Keywords: *Cynodon dactylon*, diabetes, C57Bl/6

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(132): 248-257 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۳۲ دی سال ۱۳۹۴ (۲۵۷-۲۴۸)

اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه چایل اوتی بر روی سیمای بیوشیمیایی و ارتشاح لکوسیتی لوزالمعده در دیابت تجربی خود ایمن در موش های C57BL/6

صمد زارع[۱]
سید میثم ابطحی فروشانی[۲]
هادی اسمعیلی گورچین قلعه[۳]
بهمن منصوری مطلق[۵]

چکیده

سابقه و هدف: دیابت نوع۱ یک بیماری خودایمن می‌باشد. امروزه توجه عموم به استفاده ازترکیبات طبیعی جهت درمان دیابت افزایش یافته است. مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی اثرات عصاره هیدروالکلی *گیاه چایل اوتی* (*Cynodon dactylon*) بر روی سیمای بیوشیمیایی و تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس در دیابت تجربی خود ایمن در موش‌های C57BL/6 انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی پس از القای دیابت خود ایمن، موش‌ها به سه گروه درمانی(تعداد موش‌ها در هر گروه۱۰ عدد بود) تقسیم شده و به مدت دو هفته عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی* (۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰mg/kg) را (روزانه-خوراکی) دریافت کردند. چهارده روز پس از آخرین دوز تجویزی استرپتوزوتوسین، موش‌ها نخاعی شده و پانکراس آن‌ها برای ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک جمع‌آوری شدند. اندازه‌گیری قند خون ناشتا، کلسترول و تری گلیسیرید هم در هفتمین و چهاردهمین روز پس از آخرین دوز تجویزی استرپتوزوتوسین انجام شد. جهت مقایسه داده‌های ناپارامتری (Nonparametric) مرتبط با یافته های هیستوپاتولوژیک از آزمون Kruskal-Wallis استفاده گردید. هم‌چنین به منظور مقایسه سایر داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Tukey's test استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده حاکی از کاهش معنی‌دار قندخون ناشتا، کلسترول و تری‌گلیسیرید در سرم موش‌های گروه تیمار نسبت به گروه کنترل بود. به علاوه، شدت فیلتراسیون لکوسیتی در گروه‌هایی که عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی* را دریافت کرده بودند، نسبت به گروه درمان نشده، کاهش یافته بود.

استنتاج: به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی* ممکن است اثر درمانی مقابله کننده با تخریب سلول‌های بتا و انسولیت در مدل موشی دیابت نوع ۱ را داشته باشد و ممکن است به عنوان یک استراتژی درمانی مفید در دیابت نوع ۱ انسانی مد نظر قرار گیرد.

واژه های کلیدی: گیاه چایل اوتی، دیابت خود ایمن، موش C57BL/6

مقدمه

دیابت شایع‌ترین بیماری مزمن متابولیکی است که با افزایش قندخون ناشی از کمبود مطلق یا نسبی انسولین مشخص گردیده و در دراز مدت با عوارض چشمی، کلیوی، قلبی عروقی و عصبی همراه می‌باشد(۲،۱). تعداد

مولف مسئول: صمد زارع- ارومیه: موسسه آموزش عالی فاق
E-mail: s.zare@urmia.ac.ir
۱. استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آفاق، ارومیه، ایران
۲. استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. دانشجوی دکتری ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴. کارشناسی ارشد ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۴/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۴/۲۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۷/۶

افرادی که از این بیماری رنج می‌برند در طی سال‌های اخیر رو به افزایش می‌باشد. تخمین زده شده است که در سال ۲۰۱۵ تعداد بیماران به ۲۲۱ میلیون نفر در جهان برسد(۳). اعتقاد بر این است که تخریب جزایر بتا پانکراس و متعاقب آن دیابت وابسته به انسولین (IDDM) نتیجه‌ای از اختلال در تنظیم سیستم ایمنی است(۴). عوامل محیطی و ژنتیکی متعددی بر روی سیستم ایمنی موثر بوده و منجر به حمله سلول‌های لنفوسیت بالاخص لنفوسیت‌های T و التهاب پانکراس می‌گردد(۵). این پاسخ التهابی به عنوان انسولیت شناخته می‌شود(۴). امروزه استفاده از داروهای گیاهی بسیار گسترده است. دلایل متعددی برای افزایش استفاده از گیاهان دارویی وجود دارد. براساس برآورد سازمان بهداشت جهانی، بیش از ۸۰ درصد مردم در کشورهای جهان سوم به طب سنتی برای برآورده ساختن نیازهای بهداشتی خود وابسته هستند(۶). مردمان فقیر در کشورهای جهان سوم قدرت مالی لازم جهت استفاده از علم نوین پزشکی را نداشته و لذا به طب سنتی و گیاه درمانی کاملاً وابسته می‌باشند(۷). بسیاری بر این باورند که این محصولات از طبیعت به دست می‌آیند و کاملاً سالم و بی‌ضرر هستند. طب سنتی به سیستم‌های بهداشت و سلامت بسیاری از کشورهای جهان از جمله چین، مکزیک، نیجریه و تایلند وارد شده است. علاوه بر کشورهای جهان سوم در کشورهای غربی و به خصوص اروپا نیز گرایش و تقاضا برای طب سنتی با وجود در دسترس بودن علم پزشکی نوین در حال افزایش است(۸). گیاه چایل *اوتی (مرغ و یا چایر)* (*Cynodon dactylon*) گیاهی است خودرو و چند ساله که در سراسر جهان به ویژه در مناطق گرمسیر پراکنده شده است(۹) و در اکثر نقاط ایران نیز از جمله در مازندران، آذربایجان، کردستان، اصفهان، اطراف تهران و زابل رشد می‌کند(۱۰). قسمت‌های مورد استفاده گیاه در طب سنتی شامل برگ‌ها، ریشه و ریزوم آن است(۱۱). گیاه یاد شده دارای خاصیت دیورتیکی بوده و در درمان سوزش مجاری ادراری، سنگ کلیه و پروستات کاربرد دارد(۱۲) از سایر خواص گزارش شده این گیاه می‌توان به اثرات ضد سرطانی، ضد تشنج، ضد بی‌نظمی قلب، ضد درد، ضد تب، ضد میکروبی و نهایتاً اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کننده ایمنی اشاره کرد(۹،۱۲،۱۳). از جمله ترکیبات عصاره این گیاه می‌توان به بتا کاروتن، بتا سیسترول (β-sitosterols)، ویتامین C، اسید پالمیتیک، تری ترپنوئیدها (triterpenoid)، آلکالوئیدها، فورفورال، گلوکز، فرکتوز و سلنیوم اشاره نمود(۱۴). در باورهای سنتی مردم منطقه آذربایجان گیاه مزبور به عنوان داروی ضد چربی و کاهنده قند خون کاربرد دارد. با وجودی که اثرات متعددی از قبیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی به این گیاه نسبت داده شده است(۹)، ولی تاکنون تحقیق جامعی در مورد اثرات احتمالی مفید آن در بهبود دیابت خود ایمن صورت نگرفته است. در همین راستا در این مطالعه پس از القای دیابت تیپ یک در موش‌های نر خالص نژاد C57BL/6 اقدام به تجویز غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی به* موش‌ها شده و اثرات عصاره بر میزان فاکتورهای بیوشیمیایی و سیمای هیستوپاتولوژیک بیماری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره گیاهی

گیاه *چایل اوتی* از منطقه انزل (روستای گورچین قلعه) شهر ارومیه جمع‌آوری شده، جنس و گونه آن توسط کارشناس هرباریم دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تعیین گردید. سپس به وسیله دستگاه خرد کننده، کل گیاه به صورت پودر در آورده شد. عصاره هیدروالکلی (حلال آب و اتانول به نسبت حجمی ۵۰ به ۵۰) بر اساس شیوه نجفی و همکاران تهیه شد(۱۵).

جامعه مورد مطالعه و گروه های آزمایش و شاهد

جامعه مورد مطالعه شامل موش‌های ماده خالص (inbred) نژاد C57BL/6 با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته

بود که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند. این موش‌ها در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگهداری شدند. کلیه مراحل این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه ارومیه مورد تایید قرار گرفت. موش‌های خریداری شده به صورت تصادفی و به ترتیب زیر تقسیم شدند: گروه A (گروه کنترل/ ۱۰ موش سالم) شامل موش‌های سالمی بودند که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و فقط بافر سیترات با pH=۴/۵ به آن‌ها تجویز می‌شد. گروه B (دیابتی شاهد/۱۰ موش) شامل موش‌های دیابتی بودند که تنها بیماری دیابت در آن‌ها القاء شده بود و تحت هیچ تیمار درمانی قرار نگرفتند. گروه C (دیابتی تحت درمان/۳۰ موش) شامل موش‌هایی بودند که پس از اثبات بروز دیابت در آن‌ها، به مدت ۲۱ روز عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی*(به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی روزانه- هر دوز به ۱۰ موش) را دریافت نمودند. هر گروه از موش‌ها در قفس‌های مجزا و تمیز در اتاقی با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی نگهداری می‌شدند و به مقدار کافی به آب و غذا دسترسی داشتند.

القائ دیابت خود ایمن

به منظور ایجاد بیماری از تکنیک تزریقات متوالی استرپتوزوسین (Streptozotocin,STZ) با دوز کم استفاده شد. قبل از تجویز هر دوز STZ، موش‌ها به مدت چهار ساعت ناشتا می‌شدند و حتی پوشال بستر آن‌ها نیز جمع آوری می‌شد. سپس موش‌ها STZ را به صورت داخل صفاقی تا پنج روز متوالی دریافت می‌کردند. هر بار ۵۰ mg/kg استرپتوزوسین در ۱۰۰ میکرولیتر سیترات بافر با pH=۴/۵ که ده دقیقه قبل از تجویز حل می‌شد، به موش‌ها تجویز می گردید(۱۶).

ارزیابی‌های بیوشیمیایی

به منظور تایید دیابتی شدن موش‌ها دو روز پس از آخرین دوز تجویزیSTZ موش‌ها به مدت چهار ساعت در شرایط ناشتا قرار گرفته و پس از خون‌گیری از ورید دمی با استفاده از کیت گلوکز ساخت شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) قند خون آن‌ها سنجیده شد. قند خون بالای ۲۰۰ mg/dL به عنوان سطح دیابتی شدن در نظر گرفته شد. سپس موش‌های دیابتی شده به شیوه توضیح داده شده تیمار شدند. در روز ۷ و ۱۴ پس از آخرین دوز تجویزی STZ پس از قرار دادن موش‌های گروه B و C در شرایط ناشتا از ورید دمی آن‌ها خون‌گیری شده و سطح قند، تری گلیسیرید و کلسترول خون موش‌ها با استفاده از کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) سنجیده شد. از موش‌های گروه A نیز در روزهای مشابه با موش‌های دو گروه دیگر در شرایط ناشتا از ورید دمی خون گیری شده و آزمون‌های بیوشیمیایی ذکر شده انجام گرفت.

بررسی‌های هیستوپاتولوژیک

۱۴ روز پس از آخرین دوز تجویزی STZ موش‌ها نخاعی شدند و اقدام به جمع آوری پانکراس آن‌ها (تمامی گروه‌ها) شد. بعد از تهیه بلوک‌های پارافینی و مقاطع، لام‌ها توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. سپس نمونه ها با میکروسکوپ نوری از لحاظ ارتشاح لکوسیتی در جزایر لانگرهانس پانکراس مورد بررسی قرار گرفتند(۱۷). کلیه اسلایدها به صورت دو سو کور مورد ارزیابی دقیق قرار گرفتند و جهت مقایسه داده ها از یک مقیاس نیمه کمی به شرح زیر استفاده شد:

صفر: بدون ضایعه؛ ۱: ضایعه در حد کم؛ ۲: ضایعه در حد متوسط؛ ۳: ضایعه شدید.

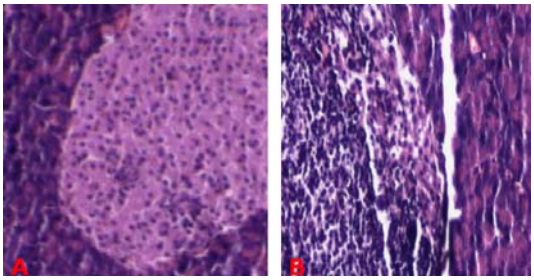
آنالیز آماری

جهت مقایسه داده‌های ناپارامتری (Nonparametric) مرتبط با یافته هیستوپاتولوژیک از آزمون Kruskal-Wallisاستفاده شد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Tukey's test به منظور مقایسه سایر داده‌ها به کار گرفته شدند. در تمام

بررسی‌ها p<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری در محیط نرم‌افزاری SPSS ویراست ۲۰ انجام گرفت و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel (۲۰۱۳) استفاده شد. کلیه داده‌ها نیز به صورت Mean±SD گزارش شدند.

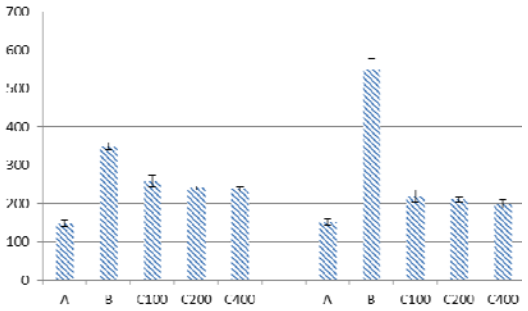
یافته ها

اندازه گیری سطح قند خون ناشتا، تری گلیسیرید و کلسترول ۷ و ۱۴ روز پس از آخرین دوز تجویزی استرپتوزوتوسین نشان داد در گروه‌هایی که از غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی *چایل* استفاده شده بود، به طور معنی‌داری بسیار کم‌تر از سایر گروه‌های دیابتی بدون تیمار است (نمودارهای شماره ۱ الی۳). ارزیابی شدت ارتشاح لکوسیتی به عنوان شاخص التهاب در روز ۱۴ پس از آخرین دوز تجویزی استرپتوزوتوسین حاکی از کاهش شدت التهاب پانکراس در موش‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی* نسبت به گروه کنترل می‌باشد (نمودار شماره ۴ و تصویر شماره ۱).

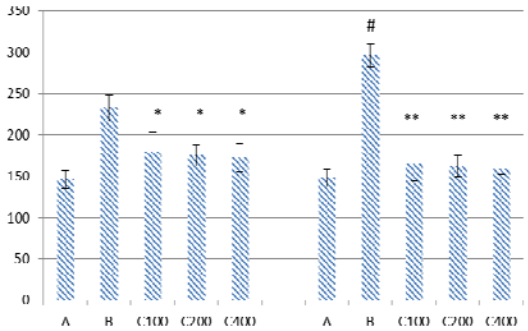


تصویر شماره ۱: ارتشاح لکوسیتی در پانکراس موش های دیابتی شده: A- گروه نرمال- زایرلانگرهانس با تراکم سلولی نرمال (H&E,X100)؛ B- گروه دیابتی- نفوذ شدید لکوسیتی در جزایر لانگرهانس(H&E,X100).

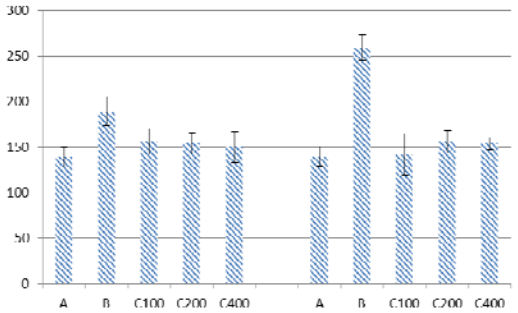
البته بر اساس این یافته ها به نظر نمی‌رسد که بین دوزهای مختلف عصاره *چایل اوتی* در مورد کاهش فاکتورهای بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک اختلاف معنی‌داری وجود داشته باشد. هم‌چنین بر اساس مقایسه یافته ها در روز ۷ و ۱۴ پس از آخرین دوز تجویزی استرپتوزوتوسین مشخص است که شدت بیماری (افزایش سطح قندخون، کلسترول و تری گلیسیرید) در گروه موش‌های دیابتی رو به فزونی است. این در حالی است که تجویز عصاره هیدروالکلی *چایل اوتی* مانع پیشرفت بیماری می‌شود (نمودارهای شماره ۱ تا ۳).



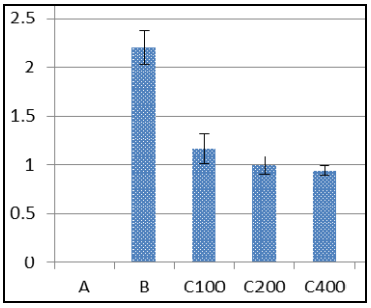
نمودار شماره ۱: میزان قند خون ناشتا در موش‌های سالم (گروه A)، دیابتی درمان نشده (گروهB) و دیابتی درمان شده با غلظت های مختلف عصاره چایل اوتی (گروه C با غلظت های ۱۰۰mg/kg، ۲۰۰، ۴۰۰) (* و ** نشاندهنده اختلاف معنی دار در سطح p<۰/۰۱ و p<۰/۰۰۱ نسبت به گروه دیابتی درمان نشده و # نشاندهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل در روز ۷ پس از آخرین دوز STZ می‌باشد).



نمودار شماره ۲: میزان تری گلیسیرید در موش‌های سالم (گروه A)، دیابتی درمان نشده (گروهB) و دیابتی درمان شده با غلظت‌های مختلف عصاره چایل اوتی(گروه C با غلظت‌های ۱۰۰mg/kg، ۲۰۰، ۴۰۰) (* و ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱ نسبت به گروه دیابتی درمان نشده و # نشاندهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل در روز ۷ پس از آخرین دوز STZ می‌باشد).



نمودار شماره ۳: میزان کلسترول در موش‌های سالم (گروه A)، دیابتی درمان نشده(گروهB) و دیابتی درمان شده با غلظت‌های مختلف عصاره چایل اوتی(گروه C با غلظت‌های mg/kg ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) (* و ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱ نسبت به گروه دیابتی درمان نشده و # نشاندهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۱ نسبت به گروه کنترل در روز ۷ پس از آخرین دوز STZ می‌باشد).



نمودار شماره ۴: شدت ارتشاح لکوسیتی در پانکراس در موش‌های سالم (گروه A)، دیابتی درمان نشده (گروهB) و دیابتی درمان شده با غلظت‌های مختلف عصاره چایل اوتی(گروه C با غلظت‌های mg/kg۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) (* نشاندهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۱ نسبت به گروه دیابتی درمان نشده می‌باشد).

بحث

اخیراً برای درمان بیماری‌های خود ایمن داروها و ترکیبات طبیعی تعدیل‌کننده سیستم ایمنی مورد توجه و مطالعه قرارگرفته‌اند(۱۸). حضور مواد متنوع و موثر از نظر فارماکولوژیک در عصاره گیاه *چایل اوتی* ثابت شده است(۱۹). نتایج برخی از مطالعات حاکی از کاهش قندخون و کلسترول توسط گیاه *چایل اوتی* در حیوانات دیابتی شده با دوز بالای STZ است. به طور مثال، رانگری و همکاران ۲۰۰۲ در مورد در مورد اثرات ضد دیابتی عصاره *چایل اوتی* بر روی موش‌هایی که با دوز بالای STZ دیابتی شده بودند مطالعه‌ای انجام دادند. دوزهای ۲۵۰ و ۱۰۰۰ این عصاره میزان قندخون را در موش‌های دیابتی تیمار شده نسبت به گروه کنترل دیابتی بعد از مدت ۴ ساعت به میزان ۳۱ درصد کاهش داد، در حالی که دوز ۵۰۰ این کاهش را به صورت ۲۳ درصد در مدت ۱ ساعت نشان داد(۲۰). هم‌چنین نشان داده شده است که برخی از ترکیبات موجود در عصاره الکلی این گیاه شامل آلکالوئیدها، استروئیدها و تانین‌ها موجب کاهش گلوکز خون در مدل دیابتی می‌شوند(۱۵). در مورد تاثیر سایر ترکیبات *چایل اوتی* اطلاعات کمی در دسترس است اما به نظر می‌سد که این ترکیبات نیز دارای اثرات ضد دیابتی باشند. تاثیر آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و تانین‌ها در کاهش میزان قند خون و کمک به بازسازی جزایر پانکراس به اثابت رسیده است(۲۱). البته بایستی توجه داشت که در هیچ یک از مطالعات فوق از تزریقات مکرر STZ با دوز پایین که منجر به ایجاد پاتولوژی مشابه با دیابت خود ایمن نوع یک در انسان می‌شود، استفاده نشده است. تحقیقات اخیر ثابت کرده است که استفاده از تزریقات متعدد و با دوز پایین STZ منجر به انفیلتراسیون سلول‌های ایمنی و شکل‌گیری التهاب در جزایر لانگرهانس پانکراس خواهد شد. به دنبال شکل‌گیری انسولیت در ظرف چند روز سلول‌های بتا تخریب و قندخون افزایش خواهد یافت(۱۸). در این مطالعه ما برای اولین بار نشان دادیم که استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه *چایل اوتی* پس از القای دیابت خود ایمن به دنبال شکل گیری التهاب منجر به بهبود در شاخص‌های مورد بررسی در موش‌ها می‌گردد. در همین راستا اندازه‌گیری قندخون ناشتا نیز در ۷ و ۱۴ روز پس از آخرین دوز تجویزی استرپتوزوتوسین انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره *چایل اوتی* سطح قند خون ناشتا نسبت به سایر گروه‌ها پایین‌تر بود. به علاوه، ضایعات هیستوپاتولوژیک که حاکی از وجود التهاب است، در گروه‌هایی که عصاره

هیدروالکلی *چایل اوتی* را دریافت کرده بودند، نسبت به گروه‌های درمان نشده، کاهش یافته بود. با توجه به ماهیت خود التهابی بیماری دیابت القایی توسط دوزهای متعدد و پایین STZ لازم است که به بررسی شواهد مبنی بر اثرات ضد التهاب و تعدیل کننده *چایل اوتی* پرداخته شود. به همین جهت ادامه بحث بر این مسائل متمرکز خواهد شد. به‌طور جالب توجهی در مطالعات پیشین خاصیت تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی توسط فراکشن‌های مختلف عصاره *چایل اوتی* بر روی موش‌های سفید ارزیابی شده است. عصاره *چایل اوتی* موجب افزایش تولید آنتی‌بادی و پاسخ‌های ایمنی هومورال(۲۲) و به تبع آن کاهش پاسخ‌های ایمنی سلولی می‌گردد. پاسخ‌های ایمنی سلولی بازوی اصلی ایجاد ضایعات در انسولیت(۲۳) هستند. اثرات ضدالتهابی گیاه *چایل اوتی* به خوبی شناخته شده است(۲۴). هم‌چنین نشان داده شده است که تجویز خوراکی ۲۰ mg/kg از عصاره *چایل اوتی* به صورت روزانه منجر به کاهش معنی داری در پاسخ‌های التهابی و استرس اکسیداتیو در موش‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت می‌شود(۲۴). رادیکال‌های آزاد تولید شده در واکنش‌های التهابی می‌توانند در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت خود ایمن نقش مهمی را ایفا نمایند. در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد(۲۵). عدم تعادل در این فرایند منجر به بروز استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیک متعدد در سطح ماکرومولکول‌های سلول می‌گردد(۲۶). افزایش سمیت القاءشده به‌واسطه رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی و موش‌های دیابتی شده با STZ به‌خوبی معلوم شده است(۲۷). سطح بالای گلوکز از طریق اتواکسیداسیون و گلیکاسیون غیرآنزیمی پروتئین‌ها موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های بتای پانکراس می‌گردد(۲۸). از آن‌جایی که مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده‌اند که گیاه *چایل اوتی* غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدهاست(۲۹)، احتمالاً بخش مهمی از اثرات درمانی این گیاه که در این مطالعه مشاهده شد، مربوط به این بخش می‌باشد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون زا مانند کاتالاز مسئول سمیت‌زدایی از رادیکال‌های آزاد آسیب‌رسان هستند. کاهش فعالیت این آنزیم در موش‌های دیابتی مشاهده شده است(۳۰). مطالعات چندی نشان داده‌اند که استفاده از مواد حاوی آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنولی که در گیاهانی از جمله *چایل اوتی* به وفور حضور دارند(۲۴) موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز می‌شود(۱۹). نجفی و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده‌اند که *چایل اوتی* موجب بهبود وضعیت موش‌های مبتلا به سرطان کولون القاء شده توسط ماده DMH، شده است(۳۱). هم‌چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد تکثیری و القاءکنندگی آپوپتوز به وسیله تست‌های DPPH، NO و MTT بر روی سلول‌های A549, AGS, MCH-7, COLO 320 DM و VERO به عنوان سلول نرمال سنجیده شد. نتایج به خوبی نشان داد که عصاره *چایل اوتی* دارای خواص ضد تکثیری و آنتی‌اکسیدانی بر روی سلول‌های A549, AGS, MCH-7 و COLO320 DM در مقایسه با سلول‌های نرمال می‌باشد(۳۲). طبیعتاً در مطالعه ما نیز فعالیت‌های تعدیل کننده، ضد التهابی، ضد تکثیری و آنتی‌اکسیدانی *چایل اوتی* منجر به بهبود سیمای هیستوپاتولوژیک بیماری و نهایتا سیمای بیوشیمیایی در موش‌های مبتلا شده است. افزایش سطح قندخون در افراد دیابتی، موجب فعال شدن آنزیم لیپوپروتئین لیپاز و افزایش سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول می‌گردد(۳۲). نشان داده شده است که مصرف خوراکی عصاره *چایل اوتی* منجر به کاهش معنی‌دار سطح کلسترول تام سرم، LDL، TG و افزایش معنی‌دار HDL در موش‌های دیابتی شده با دوز بالای STZ می‌شود(۳۳). به طور مشابهی بهبود پروفایل چربی در رت‌های دیابتی شده با آلوکسان پس از تجویز عصاره برگ‌های *چایل اوتی* گزارش شده است(۳۴). در مطالعه حاضر نیز ما مشاهده نمودیم که در کنار کاهش سطح قند خون ناشتا، سطح کلسترول و

تری گلیسیرید هم در موش‌های مبتلا به دیابت نوع یک کاهش می‌یابد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در نهایت، به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی چایل اوتی به عنوان یک ترکیب طبیعی ممکن است اثر درمانی مقابله‌کننده با تخریب سلول‌های بتا و انسولیت در مدل موشی دیابت نوع ۱ داشته باشد و ممکن است به عنوان یک استراتژی درمانی مفید در دیابت نوع ۱ انسانی مد نظر قرارگیرد. به هرحال، مطالعه حاضرتنها یک مطالعه مقدماتی بوده و لازم است‌که مطالعات بیش‌تری دراین موردصورت پذیرد.

References

1. Roep BO. The role of T-cells in the pathogenesis of Type 1 diabetes: from cause to cure. Diabetologia 2003; 46(3): 305-321.
2. Tzaneva V, Iotova V, Yotov Y.Significant urban/rural differences in the incidence of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus among Bulgarian children (1982-1998). Pediatr Diabetes 2001; 2(3): 103-108.
3. Carter D. Diabetes Mellitus-an Update for Healthcare Professionals, British Medical Association Board of Science and Education: BMA, 2004.
4. Rabinovitch A. An update on cytokines in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes Metab Rev 1998; 14(2): 129-151.
5. Amirshahrokhi K, Dehpour AR, Hadjati J, Sotoudeh M, Ghazi-Khansari M. Methadone ameliorates multiple- low- dose streptozotocin- induced type 1 diabetes in mice. Toxicol Appl Pharmacol 2008; 232(1): 119-124.
6. Mahady GB. Global harmonization of herbal health claims. J Nutr 2001; 131: 1120-1123.
7. Mehta P, Shah R, Lohidasan S, Mahadik KR. Pharmacokinetic profile of phytoconstituent(s) isolated from medicinal plants-A comprehensive review. J Tradit Complement Med 2015; 5(4): 207-27.
8. Siegfried NL, Hughes G. Herbal medicine, randomised controlled trials and global core competencies. S Afr Med J 2012; 102(12): 912-913.
9. Murali KS, Sivasubramanian S, Vincent S, Murugan SB, Giridaran B, Dinesh S, et al. Anti-chikungunya activity of luteolin and apigenin rich fraction from Cynodon dactylon. Asian Pac J Trop Med 2015; 8(5): 352-358.
10. Kumar H, Song SY, More SV, Kang SM, Kim BW, Kim IS, Choi DK. Traditional Korean East Asian medicines and herbal formulations for cognitive impairment. Molecules 2013; 18(12): 14670-14693.
11. Yesilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in north-west Anatolia. J Ethnopharmacol 1999; 64(3): 195-210.
12. Asthana A, Kumar A, Gangwar S, Dora J. Pharmacological Perspectives of Cynodon dactylon. RJPBCS 2012; 3(2): 1135-1147.
13. Kowsalya R, Kaliaperumal J, Vaishnavi M, Namasivayam E. Anticancer activity of Cynodon dactylon L. root extract against diethyl nitrosamine induced hepatic carcinoma. South Asian J Cancer 2015; 4(2): 83-87.
14. Santhi R, Kalaiselvi K, Annapoorani S. Aanti-lipid peroxideative activites of Cynodon dactylon and Moringa oleifera against ELA

induced mice. Pharmacologyonline 2009; 3: 544-549.

15. Najafi M, Nazemiyeh H, Ghavimi H, Gharakhani A, Garjani A. Effects of hydroalcoholic extract of Cynodon dactylon (L.) pers. on ischemia/reperfusion-induced arrhythmias. DARU 2008; 16(4): 233-238.
16. King AJ. The use of animal models in diabetes research. Br J Pharmacol 2012; 166(3): 877-894.
17. King AJ. The use of animal models in diabetes research. Br J Pharmacol 2012; 166(3): 877-894.
18. Jantan I, Ahmad W, Bukhari SN. Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials. Front Plant Sci 2015; 25(6): 655.
19. Uncini Manganelli RE, Tomei PE. Ethnopharmacobotanical studies of the Tuscan Archipelago. J Ethnopharmacol 1999; 65(3): 181–202.
20. Singh SK, Kesari AN, Gupta RK, Jaiswal D, Watal G. Assessment of antidiabetic potential of Cynodon dactylon extract in streptozotocin diabetic rats. J Ethnopharmacol 2007; 114(2): 174-149.
21. Ramiraz GR, Aguilera Gonzalez JC, Garcia Diaz G, Nunez Gonzalez AM. Effect of urea treatment on chemical composition and digestion of cenchrus ciliaris and Cynodon dactylon hays and zea mays residues. Journal of Animal and Veterinary Advances 2007; 6(8): 1036-1041.
22. Mangathayarua K, Umadevi M, Reddy CU. Evaluation of the immunomodulatory and DNA protective activities of the shoots of Cynodon dactylon .J Ethnopharmacol 2009; 123(1): 181-184.
23. Van Bremen T, Drömann D, Luitjens K, Dodt C, Dalhoff K, Goldmann T, et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (Trem-1) on blood neutrophils is associated with cytokine inducibility in human E.coli sepsis. Diagn Pathol 2013; 8: 24.
24. Garg VK, Khosa RL. Analgesic and Anti-Pyretic activity of aqueous extract of Cynodon dactylon. Pharmacologyonline 2008; 3: 12-18.
25. Seven A, Guzel S, Seymen O, Civelek S, Bolayirli M, Uncu M, et al. Effect of vitamin E supplementation on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: investigation of liver and plasma. Yonsei Med J 2004; 45(4): 703-710.
26. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. Fertil Steril 2003; 79(4): 829-843.
27. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol 1990; 186: 421-431.
28. Stefano GB, Scharrer B, Smith EM, Hughes TK, Magazine HI, Bilfinger TV, et al. Opioid and opiate immunoregulatory processes. Crit Rev Immunol 1996; 16(2): 109-144.
29. Singh SK, Rai PK, Mehta S, Singh RK, Watal G. Curative effect of Cynodon dactylon against STZ induced hepatic injury in diabetic rats. Indian J Clin Biochem 2009; 24(4): 410-413.
30. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocr Rev 2004; 25(4): 612-628.
31. Najafi M, Nazemiyeh H, Garjani A, Ghavimi H, Gharekhani A. Cardioprotective effects of Cynodon dactylon against ischemia/ reperfusion-induced arrhythmias. Journal of

Molecular and Cellular Cardiology 2007; 42: S12-S12 (Persian).

32. Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al, Wafai RJ. Effects of Nigella sativa and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β-cells of streptozotocin-induced diabetic rats. J Diabetes 2010; 2(4): 256-266.
33. Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Takewaki T. Isulinotropic properties of Nigella sativa oil in streptozotocin plus nicotinamide diabetic hamster. Res Vet Sci 2002; 73(3): 279-282.
34. Karthik D, Ravikumar S. A Study on the Protective Effect of Cynodon dactylon Leaves Extract in Diabetic Rats. Biomed Environ Sci 2011; 24(2): 190-199.