زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره اول، پاییز ۱۴۰۰، صفحات ۶۳- ۵۵

مقاله پژوهشی

تأثیر هرنیارین بر استرس اکسیداتیو هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین

زهرا شیبانی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: zshaibani73@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۱

چکیده

دیابت، خطر ابتلای سیستم اعصاب مرکزی به اختلالاتی مانند سکته مغزی، تشنج، زوال عقل و اختلال شناختی را افزایش می‌دهد. هرنیارین ترکیبی فنلی دارد و آنتی اکسیدان قوی است که اثربخشی آن بر اختلالات نورودژنراتیو در مطالعات اخیر گزارش شده است. هم چنین ثابت شده است، هیپرگلیسمی از طریق فرایندهای آنزیمی و غیر آنزیمی موجب القای اکسیداسیون خود به خودی گلوکز گردیده و با تحریک تولید قطعات اکسیژنی و نیتروژنی فعال، منجر به استرس اکسیداتیو می شود . در این مطالعه ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی انتخاب و به ٤ گروه: کنترل، دیابتی و دیابتی تیمارشده با هرنیارین ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم القاء گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با هرنیارین با دوز ۳۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت دو هفته به صورت خوراکی انجام گردید. قند خون پس از تزریق STZ با خون گیری از سیاهرگ دمی اندازه گیری شد. پراکسیداسیون لیپیدی، میزان تیول و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به عنوان شاخص های استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ اندازه گیری شد. در پایان داده های گروه ها با نرم افزار آماری SPSS و آزمون های one way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند. پس از القای دیابت، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش میزان تیول و کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در هیپوکامپ موش های دیابتی، نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < ۰/۰۰۱$). تجویز دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هرنیارین روزانه سبب بهبودی استرس اکسیداتیو در مغز موش های دیابتی گردید. پژوهش حاضر نشان داد که درمان با هرنیارین به طور معنی داری منجر به کاهش استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده با STZ گردید.

کلمات کلیدی: هرنیارین، استرس اکسیداتیو، بافت هیپوکامپ، دیابت، موش صحرایی.

مقدمه

دیابت ناشی از اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها است که بر اثر فقدان ترشح انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین ایجاد می‌شود (۲۰). این بیماری عوارض متابولیکی حادی نظیر کتواسیدوز، اغمای هیپراسمولار و یا عوارض مزمن نامطلوب نظیر: نوروپاتی (۱۲، ۲٤)، نفروپاتی (۲۳)، رتینوپاتی (۱)، ضایعات پوستی و نیز اختلالات متعددی در سیستم قلب و گردش خون ایجاد می‌نماید (۲). 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 غیراشباع 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 آلدئید است (۸، ١٤).

نیتریک اکسید 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 نیتریک اکسید قادر است با مولکول اکسیژن واکنش کرده و دی‌نیتروژن تری‌اکسید تولید کند. دی‌نیتروژن تری‌اکسید نیز به نوبه خود با مولکول‌های اکسیژن مانند: سوپر اکسید واکنش داده و پراکسی نیتریت تولید می‌کند که این ماده باعث آسیب‌های بافتی می‌شود (۲۳، ۳۰).

در دیابت ملیتوس، گلوکز بالا به راحتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) را غیر فعال می کند. قند بالا و گلایکه شدن این پروتئین‌ها، سبب استرس اکسیداتیو می‌شود که خود سبب پراکسیداسیون لیپید می‌شود (۱، ۲۱). از این رو به منظور برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیو، محققین از داروهای متعدد با خاصیت آنتی‌اکسیدان از جمله ویتامین E، ویتامین C و بتاکاروتن استفاده نموده‌اند (۱۷). کومارین یک ترکیب شیمیایی است که سمی و دارای یک بوی شیرین است که در بسیاری از گیاهان وجود دارد. بیوسنتز کومارین در گیاهان از طریق هیدروکسیلاسیون، گلیکولیز و حلقه‌ای شدن اسید سینامیک است. کومارین همچنین می‌تواند در آزمایشگاه از طریق واکنش پرکین بین سالیسیل آلدئید و انیدرید استیک تهیه شود. مشتقات طبیعی کومارین شامل Umbelliferone (۷- هیدروکسی کومارین) و Aesculetin (۷ و٦- دی هیدروکسی کومارین) و Herniarin (۷- متوکسی کومارین) و psoralen و Imperatorin است (۲۷). همچنین هرنیارین به عنوان ماده مؤثره اصلی در بسیاری از گیاهان که از آن جمله میتوان به گیاهانی مانند بابونه ، شیرین بیان، رزماری و اسطوخدوس اشاره کرد (۲۸). تحقیقات نشان می‌دهند هرنیارین دارای خواص دارویی متنوعی از جمله ضد التهاب (۲۹)، مهار رادیکال (۷)، ضددرد (۹) و فعالیت‌های سمیت سلولی در رده‌های سلولی مختلف از جمله سلول‌های MCF-7 و سرطان حنجره است (١٦). این مطالعه به منظور تعیین اثر هرنیارین بر استرس اکسیداتیو بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی ٤٠ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مرکز تکثیر دانشگاه جندی شاپور اهواز خریداری شدند. این موش‌ها در قفس‌های ویژه‌ای نگهداری شده و دمای اتاق حیوانات حدود ۲۲ درجه سانتی گراد بود. برنامه نوری مورد استفاده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با شروع روشنایی صبحگاهی در ساعت ۸ تعیین و حیوانات آزادانه به آب تازه و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند. غذای موش-ها از کارخانه خوراک دام پارس تهیه شد. علاوه بر این، بررسی‌های بالینی نیز به منظور یافتن علائم عام آسیب‌شناسی، به طور متناوب انجام می‌گرفت. در برنامه مطالعاتی، در ابتدا وزن‌گیری انجام شد و طبق وزن-های به دست آمده، موش‌ها در قفس‌ها قرار گرفتند. با این عمل میانگین وزن هر قفس در یک رنج قرارگرفت و عامل وزن حذف شد. داروی مورد استفاده برای القاء دیابت، استرپتوزوتوسین (STZ) خریداری شده از

شرکت سیگما-آلدریچ آمریکا (Sigma-Aldrich, USA) بود که با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، پس از حل کردن در بافر سیترات به صورت داخل صفاقی (IP) به موش‌ها تزریق شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون با خونگیری از سیاهرگ دمی و با استفاده از دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان ارزیابی ایجاد بیماری در نظر گرفته شد (۲۵). حیوانات به ٤ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و هر گروه نیز تحت آزمایشات خاص به شرح زیر قرارگرفتند: گروه کنترل (هیچ گونه دارویی دریافت نکردند) ، گروه دیابتی دریافت کننده داروی STZ (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه دریافت کننده STZ + دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هرنیارین، گروه دریافت کننده STZ + دوز ۳۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم هرنیارین به روش تجویز داخل معدی (گاواژ) به مدت ١٤روز تیمار شدند (۵) و پس از آن آزمون های بیوشیمیایی انجام شد. تمامی مراحل آزمایشات طبق قوانین کمیته بین المللی اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و براساس پروتکل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه صورت پذیرفت.

سنجش مالون دی آلدئید (MDA): در این آزمایش از گروه‌های ۱۰تایی موش استفاده شد و از سر هر موش بافت هیپوکامپ استخراج گردید. بافت موردنظر بلافاصله وزن شده و با ازاء هر۱ گرم بافت ۱۰ میلی-لیتر محلول KCL ۱/۵ درصد هموژنه شدند. از محلول هموژنه شده ۰/۵ میلیلیتر برداشته و۲/۵ میلی لیتر TCA ۳٪ اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد، سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفیوز برداشته شد و به هریک ۳ میلی لیتر محلول ۰/۱ اسید فسفریک و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/٦٧ درصد TBA اضافه شد و ٤٥ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند، لوله‌ها در ظرف یخ خنک شدند و به هریک ٤ میلی‌لیتر بوتانول اضافه شد بعد از ورتکس کردن ۲۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شده و در نهایت جذب با طول موج ۵۳۲ نانومتر و پس از قراردادن اعداد حاصل از اسپکتروفتومتری و جذب در معادله خطی منحنی استاندارد میزان غلظت MDA بر اساس (nmol/g/ wet tissue) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۹).

منحنی استاندارد: در ابتدا باید منحنی استاندارد رسم شود که لازم است محلول استاندارد MDA تهیه شده و با استفاده ازدستگاه اسپکتروفتومتر، طول موج‌ها اندازه‌گیری می‌شوند. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد با غلظت‌های ۸،۱۰، ٦،٤، ۲، ۱، ۰/۵ میکرومولار برداشته شد. سپس ۳ میلی‌لیتر محلول ۱٪اسید فسفریک اضافه شد. و بقیه مراحل همچون مراحل قبل انجام گردید.

سنجش میزان تیول: در این آزمایش از گروه های ۱۰ تایی موش استفاده شد. بافت مورد نظر بلافاصله وزن شده و با ازاء هر ۱ گرم بافت ۱۰ میلی لیتر محلول KCL۱/۵٪ اضافه شد و هموژن گردید. از محلول هموژن شده ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته شده و ۲/۵ میلی لیتر TCA ۳٪ اضافه شد و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفیوژ برداشته شد. برای ارزیابی گروه تیول از DTNB (معرف المن) استفاده گردید. در یک لوله ی آزمایش ۱ میلی‌لیتر از بافر تریس PH=٦ را به ۵۰ میکرولیتر محلول هموژن بافت اضافه نمودیم و جذب نوری آن در طول موج ٤١٢ نانومتر اندازه‌گیری شد (A1). سپس به لوله ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB اضافه نموده، ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب آن در همان طول موج

اندازه‌گیری گردید (A2). میزان جذب شاهد حاوی بافر تریس و نیز در ٤١٢ نانومتر اندازه گیری گردید (B). مقادیر A1 ، A2 و B بدست آمده در رابطه ی ۱ قرار داده و میزان گروه‌های تیولی محاسبه گردید (۱۰).

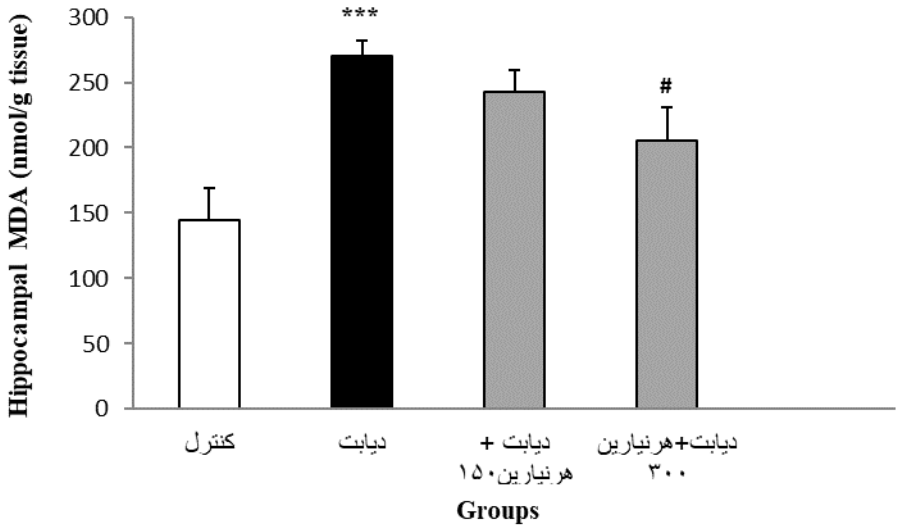
میزان گروه‌های تیول = (A2-A1-B) × 1.07/0.05 ×13.6

اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: تهیه نمونه و نحوه سنجش سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مطابق با دستورالعمل قید شده در کیت تجاری BioVision Incorporated, (Milpitas, CA, USA) انجام شد. یک واحد فعالیت به معنی مقداری از آنزیم که موجب اکسیداسیون ۱ میکرومول از NADPH به +NADP در دقیقه تحت شرایط کیت و در دمای ۲۵°C است (۱۰).

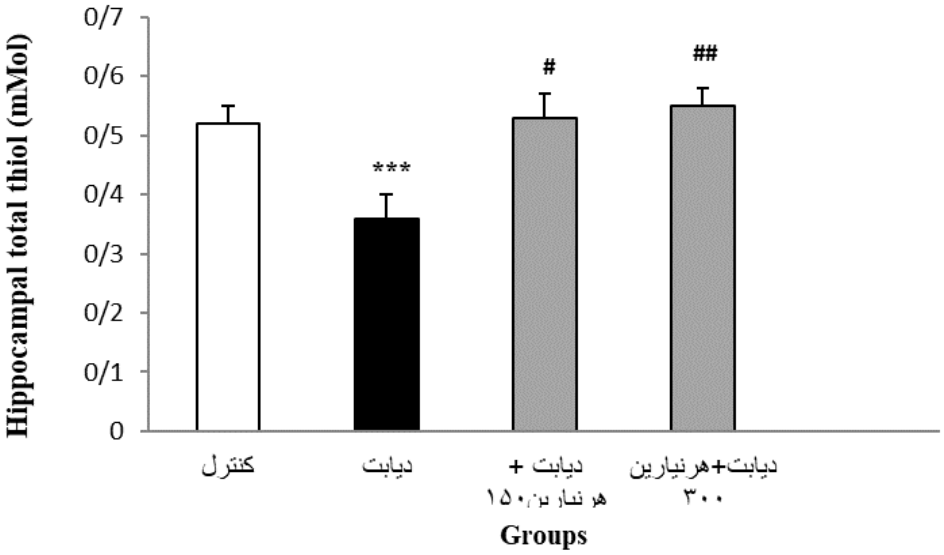
روش‌های آماری: داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار از میانگین(Mean ± SEM) بیان شده اند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی نتایج در گروه‌های مختلف از آزمون‌های ANOVA آنالیز شدند و در موارد اختلاف بین گروه-ها با $p < ۰/۰۵$ معنی دار محسوب شده است.

نتایج

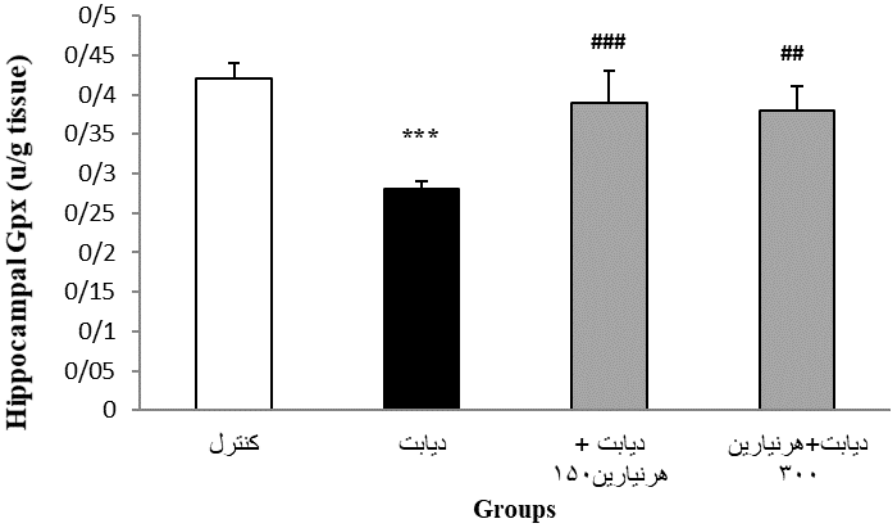
همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود دیابت (ناشی از STZ) منجر به افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطح مالون دی آلدئید هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل شد ($p < ۰/۰۰۱$). تجویز هرنیارین با دوز (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب کاهش قابل توجه سطح مالون دی آلدئید در هیپوکامپ هموژنه شده نسبت به گروه دیابتی گردید ($p < ۰/۰۵$). ولی دوز ۱۵۰ هرنیارین تفاوت معنی داری را نشان داد. در مقایسه گروه تیول بین گروه های کنترل ، دیابتی و دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ هرنیارین که به مدت ١٤ روز هرنیارین به صورت گاواژ دریافت کردند، مشاهده شد که میزان تیول در گروه دیابتی کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P< ۰/۰۰۱$) و میزان گروه تیول در گروه دریافت کننده دوزهای ($p < ۰/۰۵$) ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ($p < ۰/۰۱$) ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هرنیارین نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌داری داشته است (نمودار ۲). با توجه به نتایجی که در نمودار ۳ ارائه شده است، میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت هیپوکامپ در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۰۱$). نتایج تجویز ١٤ روزه هرنیارین با دوزهای ۱۵۰ ($p < ۰/۰۰۱$) و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p < ۰/۰۱$) نشان داد که میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت هیپوکامپ در مقایسه با گروه دیابتی افزایش معنی داری داشته است.



نمودار ۱- مقایسه میزان مالون دی آلدئید (MDA) درون بافت هیپوکامپ بین گروه های کنترل، دیابت و دیابت دریافت کننده هرنیارین (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).علامت (*) بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه دیابت و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه دیابت و دیابت درمان شده با هرنیارین است.



نمودار ۲- مقایسه میانگین±انحراف معیار از میانگین گروه تیول درون بافت هیپوکامپ بین گروه های کنترل، دیابت و دیابت دریافت کننده هرنیارین (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).علامت (*) بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه دیابت و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه دیابت و دیابت درمان شده با هرنیارین است.



نمودار ۳- مقایسه میانگین ± انحراف معیار از میانگین گروه گلوتاتیون پراکسیداز درون بافت هیپوکامپ بین گروه های کنترل، دیابت و دیابت دریافت کننده هرنیارین (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). علامت (*) بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه دیابت و کنترل و علامت #بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه دیابت و دیابت درمان شده با هرنیارین است.

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که دیابت باعث افزایش معنی‌دار میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد هرنیارین توانسته است شاخص پراکسیداسیون لیپیدی را در موش‌های صحرایی دیابتی گروه تیمار به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی کاهش دهد. رامش و همکاران (۲۰۰۶) طی مطالعه‌ای اثرات آنتی‌اکسیدانی آمبلی فرون در موش-های دیابتی با STZ گزارش کرده اند. نتایج آنها نشان داده است که درمان با آمبلی‌فرون نشانگرهای پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد و وضعیت آنتی اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد و می‌توان آن را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در نظر گرفت (۲۶).

هیپرگلیسمی از طریق فرایندهای آنزیمی و غیر آنزیمی موجب القای اکسیداسیون خودبه خودی گلوکز گردیده و با تحریک تولید قطعات اکسیژنی و نیتروژنی فعال (۳)، منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۱) و تقریباً در این زمینه دارویی که به طور مستقیم قادر به درمان نوروپاتی دیابتی باشد، وجود ندارد (۳۱). مطالعات مشابه نشان داده است که در افراد مبتلا به دیابت هردو عامل یعنی تولید ترکیبات واکنش گر اکسیژن دار (ROS) افزایش و دفاع آنتی-اکسیدانی کاهش می یابد (۱۳). همچنین نتایج این پژوهش مشخص نمود که در موش‌های دیابتی شده میزان تیول و میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز در بافت هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است. گزارش شده است که دیابت فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان را پایین می آورد که احتمالا به دلیل افزایش درگیری آنها در مقابله با استرس اکسیداتیو بیش از حد در موشهای صحرایی دیابتی می باشد (۱۸). در حالی که تجویز خوراکی هرنیارین با دوز ۱۵۰و۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گروه دیابتی تحت درمان باعث افزایش معنی دار میزان تیول و افزایش معنی دار

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه دیابتی شده است. همچنین نشان داده شده است که گیاهان مختلفی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها نقش دارند (۲۲). کوماریک اسید ترکیبی با خواص آنتی-اکسیدانی قطعی می‌باشد که در برخی مطالعات با کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا به دام انداختن آنها و با کاهش لیپید پراکسیداسیون در موش دیابتی شده همراه بوده است (۲۶). مطالعات گزارش کرده اند فلانوئیدهای موجود در ترکیب گیاهان نیز دارای خواص کاهنده استرس اکسیداتیو از طریق افزایش گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و سوپراکسیددسموتاز و کاهش لیپید پراکسیداسیون در برخی مطالعات بوده-اند (٤). رضایی و همکاران (۲۰۱٤) فعالیت‌های آنتی-ژنوتوکسی کومارین‌های رژیم غذایی طبیعی، هرنیارین و ایزوپنتنیلوکسی را بر روی لنفوسیت‌های انسان تحت اثر استرس اکسیداتیو بررسی کردند. آنها با آسیب DNA لنفوسیت انسانی و با استفاده از الکتروفورز ژل تک سلولی، این تحقیق را انجام دادند و اثرات آنتی توکسیک ترکیبات مورد آزمایش با اسکوربیک اسید (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر) مقایسه شدند. آمبلی فرون، هرنیارین و ایزوپنتنیلوکسی هیچ اثر زنوتوکسیکی در مقایسه با بافر فسفات سالین نشان ندادند. درمان با این ترکیبات منجر به کاهش قابل توجهی در درصد دنباله DNA ایجاد شده با هیدروژن پراکسید، در تمام غلظت¬ها شد (۲۷). هایس و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی اقدام به بررسی فواید استفاده از محصولات طبیعی شامل کومارین و مشتقات آن مانند هرنیارین به عنوان مهارکننده های گلیکوژن فسفوریلاز درمان بالقوه برای دیابت نوع ۲ کردند. گلیکوژن فسفریلاز یک هدف مهم درمانی برای درمان بالقوه دیابت نوع ۲ است. جستجو برای مهار کننده‌های قوی، انتخابی و دارویی مشابه گلیکوژن فسفوریلاز که ممکن است در نهایت منجر به عوامل هیپوگلیسمی شود، تا به امروز تعدادی از مهار کننده‌های طبیعی را با هر دو پتانسیل دارویی و نیتروژنتیک کشف کرده است. همچنین اقدام به استفاده از ترکیبات هرنیارین به دست آمده از گیاه رزماری به عنوان مهارکننده‌های گلیکوژن فسفوریلاز شد که نتایج از تاثیر مثبت این ترکیب حاکی بود (۱۵).

نتیجه‌گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد که کاهش استرس اکسیداتیو عاملی است که به وسیله آن هرنیارین فعالیت محافظت نورونی خود را در هیپوکامپ موش صحرایی دیابتی شده با STZ ایفا می نماید که با تایید آن در آزمایش های بالینی می تواند در پیشگیری و احتمالا در درمان اختلالات شناختی عصبی بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرد. البته جهت بررسی مکانیسم‌های آن مطالعات بیشتری مورد نیاز می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسنده از مدیریت آزمایشگاه های دانشگاه پیام نور استان خوزستان به دلیل همراهی در انجام این تحقیق تشکر می کند.

منابع

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

2. Aitken R.J., Clarkson J.S., Fishel S.1989. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod*. 41:183-97.

3. Al-Nimer M.S., Al-Ani F.S., Ali F.S.2012. Role of nitrosative and oxidative stress in neur-opathy in patients with type 2 diabetes me-llitus. *J Neurosci Rural Pract* .3:41-4.

4. Amer M., El-Habibi E.S., El-Gendy A.2004. Effects of Trifolium alexandrium extracts on streptozocininduced diabetes in male rats. *Ann Nutr Meta* .48:343–7.

5. Aydin T., Serkan Ero H., Cakir A., Yildirim S., Selim Y., Halici M.2017. Effects of herniarin on sepsis induced rats' liver. *J Pharma Care Health Sys*.4:4 (Suppl)

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

7. Bertin R., Chen Z., Martínez-Vázquez M., García-Argaéz A., Froldi G.2014. Vasodilation and radical-scavenging activity of imperatorin and selected coumarinic and flavonoid compounds from genus *Casimiroa*.*Phytomedicine*.21:586-94.

8. Cheng J.2000. Review: drug therapy in chinese traditional medicine. *J Clin Pharmacol* .40:445-50.

9. Cheriyan B.V., Kadhirvelu P., Nadipelly J., Shanmugasundaram J., Sayeli V., Subramanian V. 2017.Anti-nociceptive effect of 7-methoxy coumarin from *Eupatorium triplinerve vahl* (Asteraceae). *Pharmacogn Mag*.13:81-4.

10. Doulah A., Rafieirad M., zangenehnezhad Z.2020. Evaluation of hydroalcoholic extract of Thyme on malondialdehyde, thiol, and glutathione peroxidase concentration in the Parkinson's model induced by 6-hydroxydopamine in adult male rats. *J Med Plants*.19 (74) :325-334. [in Persian]

11. Edwards J.L., Vincent A.M., Cheng H.T., Feldman E.L.2008. Diabetic neuropathy: Mech-anisms to management. *Pharmacology &a-mp; Therapeutics*.120:1-34.

12. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M.2003. Are oxidative stress- activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β- cell dysfunction. *Diabetes*. 52: 1-8.

13. Figueroa-Romero C., Sadidi M., Feldman EL.2008. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord*. 9:301-14.

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

15. Hayes M., Anastassia L., Lu P.2018.Natural products and their derivatives as inhibitors of glycogen phosphorylase: potential treatment for type 2 diabetes. *Am J Veterin Res*.69(1): 94-100.

16. Haghighitalab A., Matin MM., Bahrami AR., Iranshahi M., Haghighi F., Porsa H.2014. Enhancement of cisplatin cytotoxicity in combination with herniarin *in vitro*. *Drug Chem Toxicol*.37:156-62.

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

18. Kondeti V.K., Badri K.R., Maddirala D.R., Thur S.K., Fatima S.S., Kasetti R.B.2010.Effect Of Pterocarpus SantalinusBark, On Blood Glucose, Serum Lipids, And Plasma Insulin And Hepatic Carbohydrate Metabolic Enzymes In Streptozotocin Induced Diabetic Rats.*Food Chem Toxicol*. 48(5):1281-7.

19. Norouzi F., Doulah A., Rafieirad M.2020. Effects of Four Week Consumption of Lemon (Citrus limon L.) Essential Oil with Swimming Training on Lipid Profile and Lipid Peroxidation in Adult Male Mice. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*.14 (4) :1-8. [in Persian]

20. Northam EA., Rankins D., Lin A .2009. Central nervous system function in youth

with type 1 diabetes 12 years after disease onset. *Diabetes Care*.32: 445-50.

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

22. Pari L., Latha M.2005. Antidiabetic effect of Scoparia dulcis, effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *Gen Physiol Biophys*.24(1):13–26.
23. Pitocco D., Zaccardi F., Di Stasio E .2010. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. RevDiabetic Stud. 7: 15-9. 24.Pop-Busui1 R., Sima A., Stevens M.2006. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev*.22:257-273.

25. Rafieirad M., Valipour Chardahcherik S.2013. Gallic acid improves the memory and pain in diabetic rats. *Yafte*.15 (2) :33-41. [in Persian]

26. Ramesh B., Pugalendi K.V.2006. Antioxidant role of umbelliferon in STZ–diabetic rats. *Life Sci* .79:306 –310.

27. Rezaee R., Behravan E., Behravan J., Soltani F., Naderi Y., Emami B.2014. Antigenotoxic activities of the natural dietary coumarins umbelliferone, herniarin and 7-isopentenyloxy coumarin on human lymphocytes exposed to oxidative stress. *Drug and chemical toxicology*.37(2):144-8.

28. Roomiani L., Soltani M., Akhondzadeh Basti A., Mahmoodi A., Mirghaed A., Yadollahi F.2018. Evaluation of the chemical composition and in vitro antimicrobial activity of Rosmarinus officinalis, Zataria multiflora, Anethum graveolens and Eucalyptus globulus against Streptococcus iniae the cause of zoonotic disease in farmed fish. *Iranian Fisheries Science Research Institute*.12(3): 702-16.

29. Silván A.M., Abad M.J., Bermejo P., Sollhuber M., Villar A.1996. Antiinflammatory activity of coumarins from Santolina oblongifolia. *J Nat Prod*. 59:1183-5.

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

31. Zhang M., Chen L.2012. Berberine in type 2diabetes therapy: a new perspective for an old antidiarrheal drug? *Acta PharmaceuticaSinica B*.2:379-86.