

The effect of aqueous extract of grapevine leaf (*Vitis vinifera*) on pathologic features of the pancreas in type-1 experimental diabetes: a different approach to medicinal plants

Beheshtipour J., DVM Student¹, Akradi L., Phd², Raeeszadeh M., Phd³

1. DVM Student, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

2. Assistant Professor in Pathology, Department of Pathobiology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran (Corresponding author), Tel: 087-33367116, Email:loghmanakradi@yahoo.com

3. Assistant Professor in Pharmacology, Department of Basic Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: There has been many studies on the use of medicinal plants in the treatment of type-1 diabetes, as a chronic metabolic disorder. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of aqueous extract of grapevine leaf (*Vitis vinifera*) on histopathological changes in pancreas of male Wistar rats with alloxan-induced type-1 diabetes.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 male Wistar rats were randomly divided into 5 equal groups: control (C); diabetic (S); T1, T2 and T3 (diabetic animals treated with aqueous extract of grapevine leaf with doses of 200, 400 and 600 mg/kg, respectively). The extracts were administered daily by gavage for 21 days. At the beginning and end of the study, blood glucose levels were measured. At the end of the experiment, the animals were euthanized based on the animal research ethics. We isolated the pancreases of the animals for evaluation of histopathological changes based on the following criteria: vacuolation of cells; degenerative changes; vascular hypertrophy and hyperemia.

Results: Blood glucose levels in the T2 group were significantly reduced compared to those in other groups ($P < 0.05$). Among the diabetic groups, the highest and lowest histopathological lesions in the pancreas were observed in S and T2 groups, respectively. The histopathological lesions of the pancreas in the T3 group were less than those in the T1 group, although these differences were not significant ($P > 0.05$).

Conclusion: This study showed that prescription of 400 mg/kg of grapevine leaf aqueous extract could be effective in the treatment of diabetes and improvement of its histopathological changes.

Keywords: Type-1 diabetes, *Vitis vinifera*, Pancreas, Rats

Accepted: Aug 11, 2018

Received: May 1, 2018

بررسی تاثیر عصاره آبی برگ انگور سیاه (*Vitis vinifera*) بر روی سیمای پاتولوژیک پانکراس در دیابت نوع یک تجربی: رویکردی متفاوت به گیاهان دارویی

جواد بهشتی پور¹، لقمان اکرادی²، مهدیه رئیس زاده³

1. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.
2. استادیار پاتولوژی، گروه پاتوبیولوژی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران (مؤلف مسئول)، تلفن ثابت: 087-33367116، loghmanakradi@yahoo.com
3. استادیار فارماکولوژی، گروه علوم پایه، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی در درمان دیابت نوع 1، به عنوان یک اختلال متابولیک مزمن، مورد بحث و بررسی است. هدف از این مطالعه بررسی اثربخشی عصاره آبی برگ انگور سیاه بر روی تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس موش های صحرایی نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع یک القا با آلوکسان بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی 30 موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به 5 گروه مساوی تقسیم شدند: کنترل (C)؛ شاهد دیابتی (S)؛ T1، T2 و T3 (حیوانات دیابتی تیمار با عصاره آبی برگ انگور سیاه به ترتیب در مقادیر 200، 400 و 600 میلی گرم بر کیلوگرم). عصاره آبی برگ انگور سیاه روزانه و از طریق گاوآژ به مدت 21 روز تجویز شد. در ابتدا و انتهای دوره مطالعه سطح گلوکز خون حیوانات سنجیده شد. در پایان دوره آزمایش حیوانات با رعایت اخلاق پژوهشی معدوم و پانکراس آنها جهت بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک براساس معیارهای زیر جدا گردید: واکوتله شدن سلولها؛ تغییرات دژنراتیو؛ هایپرتروفی عروق و پرخونی.

یافته ها: سطح گلوکز خون در گروه T2 در مقایسه با سایر گروهها دچار کاهش معنی داری شد ($P < 0/05$). بین گروه های دیابتی مورد مطالعه بیشترین و کمترین ضایعات هیستوپاتولوژیک پانکراس به ترتیب مربوط به گروه های S و T2 بود. ضایعات هیستوپاتولوژیک پانکراس در گروه T3 نسبت به گروه T1 کمتر بود، اگرچه این اختلافات معنی دار نبود ($P > 0/05$).

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که دوز تجویزی 400 میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی برگ انگور سیاه می تواند در درمان دیابت و بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از آن موثر باشد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع 1، *Vitis vinifera*، پانکراس، موش های صحرایی

وصول مقاله: 97/2/11 اصلاحیه نهایی: 97/5/10 پذیرش: 97/5/20

مقدمه

ديابت يكي از مهم ترين دلايل مرگ و مير در جهان بوده كه شيوع بالايي دارد(1). تخمين زده مي شود شيوع ديابت از 415 ميليون نفر در سال 2015 به 642 ميليون نفر در سال 2040 برسد(2). در ميان انواع آن، ديابت نوع 1 به عنوان يك اختلال متابوليكي مزمن شناخته شده است كه مشخصه اصلي آن هايپرگلايسمي و تخريب سلول هاي بتاي توليد كننده انسولين در جزاير لانگرهانس پانكراس مي باشد(3). در پاتوژنز بيماري عوامل متعددي دخيل هستند كه مي توان به فاكترهاي ژنتيكي (براي مثال، آنتي ژن هاي لكوسيت انساني (HLA))، عوامل ايمونولوژيك (نظير تحمل، ايمني سلولي و هومورال)، گونه هاي فعال اكسيژن (ROS) و شرايط محيطي (ويروس ها، رژيم غذايي و فلور ميكروبي روده) اشاره كرد(4و5).

از آنجائيكه ديابت نوع 1 پيش زمينه بسياري از اختلالات ديگر همچون نفروپاتي، نوروپاتي، رتينوپاتي و ناراحتي هاي قلبي-عروقي مي باشد(6)، لذا توجه به درمان ديابت و كاستن از مشكلات متعاقب آن ضروري مي باشد. روند جهاني به منظور درمان انواع بيماري ها از دارو هاي شيميايي به سمت استفاده از گياهان دارويي سوق پيدا کرده است(7و8). انگور سياه (*Vitis vinifera*) يك درخت چند ساله بومي آسياي صغير بوده كه از آنجا به ساير مناطق جهان معرفي شده است(9). از ساقه، ميوه و برگ انگور در بهبود بسياري از بيماري ها استفاده مي شود. اثربخشي ساقه و ميوه آن در درمان انواع سرطان ها، آسيب هاي كبدي، كنترل فشار خون، كاستن از آسيب به DNA، كنترل هايپرليپيدمي و ديابت اثبات شده است(10و11). برگ انگور سياه غني از مواد معدني و انواع ويتامين ها بوده كه جهت درمان اسهال، استفراغ، درد معده و زردی از ديرباز در طب سنتي بسياري از كشورهاي خاورميانه مورد استفاده قرار مي گيرد(12). در خصوص تاثير برگ انگور بر كنترل ديابت با وجود پتانسيل هاي آنتي اكسيداني از جمله كوئرستين، ميريسيتين و زورراترول و همچنين تاثير بر روي تعديل فعاليت هاي

آنزيم هاي مشاركت كننده در متابوليسم گلوکز گزارشاتي وجود داشته است(13و10).

با توجه به اينكه، تاكنون مطالعه اي چه در سطح ملي و چه در سطح جهاني پيرامون تاثير برگ انگور بر سيمای پانكراس در ديابت نوع 1 تجربي صورت نگرفته است. لذا هدف از اين مطالعه ارزيابي تاثير عصاره آبي برگ انگور سياه (*Vitis vinifera*) بر روي تغييرات هيستوپاتولوژيك پانكراس موش هاي صحرابي نر نژاد ويستار مبتلا به ديابت نوع يك القايي با آلوكسان بود.

روش بررسي

مطالعه حاضر از نوع تجربي- مداخله اي بود كه بر روي 30 سر موش صحرابي نر نژاد ويستار (محدوده وزني 250-200 گرم و دامنه سني 6-8 هفته) خريداري شده از انستيتو پاستور ايران انجام پذيرفت. تمام حيوانات در طی مطالعه به آب سالم و كنساتره مخصوص (شرکت بهپرو، تهران، ايران) به صورت آزادانه دسترسي داشته و تحت شرايط محيطي كنترل شده (دمای 21 ± 2 درجه سانتی گراد، 12 ساعت روشنايي و 12 ساعت تاريكي) نگاه داری شدند. 7 روز بعد از سازگاري حيوانات با شرايط محيطي، مطالعه آغاز گردید.

آماده سازي عصاره آبي برگ انگور سياه:

برگ انگور سياه از مزارع منطقه اورامان تخت، شهري در غرب ايران، با مختصات جغرافيايي طول $46^{\circ}15'06.7''$ و عرض $35^{\circ}15'11.6''$ جمع آوري گردید. هويت اين گياه به تايد مركز هرباريوم آزمايشگاه سيستماتيک گياهي دانشگاه كردستان رسيد. بعد از جمع آوري، برگ ها به مدت 72 ساعت درجای خنك و به دور از نور قرار گرفته و خشك گردیدند. سپس برگ ها آسياب شده و پودر شدند. در ادامه به 500 گرم پودر برگ انگور سياه 10 ليتر آب مقطر اضافه شده و به مدت 8 ساعت در حمام آب گرم 45°C قرار داده شد. مخلوط حاصل توسط كاغذ صافي واتمن شماره 1 صاف شده و سپس بوسيله روتاري متصل به

این مطالعه ملاحظات اخلاقی جهت استفاده از حیوانات براساس پروتکل های بین المللی بود (16).

ارزیابی های هیستوپاتولوژیک پانکراس:

21 روز پس از شروع مطالعه، حیوانات گروه های مورد آزمایش بوسیله تزریق داخل صفاقی کتامین (100 میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند (17). سپس حفره شکم هر حیوان باز و پانکراس از سایر ارگان ها جدا گردید. بلافاصله جهت فیکساسیون، پانکراس های جدا شده به صورت جداگانه داخل فرمالین 10 درصد قرار داده شده و پس از طی 48 ساعت، داخل پارافین قالب بندی شدند. سپس از بلوک های پارافینی بوسیله میکروتوم برش هایی با ضخامت 5 میکرومتر تهیه و در ادامه توسط هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند. از یک سیستم امتیازبندی نیمه کمی جهت ارزیابی معیارهای هیستوپاتولوژیک لام های تهیه شده استفاده شد (18 و 19). براساس آن، حداقل 10 فیلد از هر لام پانکراس توسط دو پاتولوژیست به صورت دو سو کور با میکروسکوپ نوری (Nikon 3200) بررسی و هر معیار از 0 تا 3 امتیازبندی شد (0: بدون ضایعه، 1: خفیف، 2: متوسط و 3: شدید). معیارهای مورد بررسی عبارت بودند از: واکوئله شدن سلول- های جزایر لانگرهانس؛ تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس؛ هایپرتروفی عروق خونی و پرخونی در عروق و بافت پانکراس.

آنالیز آماری:

داده های حاصل از مطالعه به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm SEM) گزارش شدند. جهت مقایسه میانگین داده های پارامتریک بین گروه ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و تست تعقیبی توکی (Tukey's test) استفاده شد. امتیازهای هیستوپاتولوژیک کبد توسط آزمون کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) بررسی شدند که در صورت معنی-داری، مقایسه های زوجی بین گروه ها با آزمون مان-ویتنی (Mann-Whitney) انجام پذیرفت. تمام بررسی های

پمپ خلاء در دمای 40°C تغلیظ گردید (14). در نهایت عصاره به دست آمده، توسط روتاری تحت خلاء پودر شده و جهت تجویز به حیوانات غلظت های 200، 400 و 600 میلی گرم بر کیلوگرم از آن توسط آب مقطر استریل تهیه گردید

تهیه آلوکسان مونوهیدرات و القای دیابت:

در این مطالعه جهت القای دیابت نوع 1 از پودر آلوکسان مونوهیدرات با وزن مولکولی 160/08 گرم بر مول و خلوص 98 درصد، تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریچ (Lot No = STBB8745V) استفاده گردید. جهت القای دیابت، محلول 5 درصد از این ماده با استفاده از نرمال سالین تهیه و به صورت داخل صفاقی با دوز 150 میلی گرم بر کیلوگرم به حیوانات تزریق شد (15). 3 روز پس از تزریق آلوکسان، سطح گلوکز خون تمامی حیوانات که به مدت 12 ساعت قطع غذا (ناشتا) شده بودند توسط گلوکومتر دیجیتال (Optima، تایوان) از طریق ورید دمی اندازه گیری شد. موش های صحرائی نر نژاد ویستاری که قند خون بالای 11/1 میلی مول بر لیتر داشتند به عنوان دیابتی انتخاب و وارد مطالعه شدند. مطالعه از لحظه تایید دیابتی- شدن حیوانات (روز صفر) آغاز شد.

طرح آزمایش:

موش های صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به 5 گروه جداگانه 6 تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (C): موش های سالمی که فقط آب مقطر را روزانه و به شکل گاواژ دریافت کردند؛ گروه شاهد (S): موش های دیابتی که صرفاً آب مقطر را روزانه و به صورت گاواژ دریافت کردند؛ گروه های تیمار اول (T1)، دوم (T2) و سوم (T3): موش های دیابتی که عصاره آبی برگ انگور سیاه را به صورت روزانه از طریق گاواژ به ترتیب با دوزهای 200، 400 و 600 میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. طول دوره مطالعه برای تمامی حیوانات 21 روز بود. در ابتدا (روز صفر) و انتهای مطالعه (روز 21) سطح گلوکز خون ناشتا توسط گلوکومتر دیجیتال اندازه گیری شد. در

كاهش معنى دار سطح گلوکز گروه T2 در مقايسه با گروه-هاى T1 و T3 بود. بيشترين تغيير سطح گلوکز خون بين حيوانات ديابتى مربوط به گروه دريافت كننده عصاره آبي برگ انگور سياه با دوز 400 ميلي گرم بر كيلوگرم (T2) بود كه سطح گلوکز اين گروه در انتهاي دوره (روز 21) نسبت به ابتدائى دوره (روز صفر) مطالعه، 46/82 درصد كاهش يافته بود (جدول 1).

آمارى داده ها بوسيله نرم افزار SPSS 23 انجام و $P < 0/05$ به عنوان سطح معنى دارى در نظر گرفته شد.

يافته ها

سطوح گلوکز خون گروه هاى مورد مطالعه:

اندازه گيرى سطح گلوکز خون حيوانات در روز 21 حاكى از كاهش معنى دار سطح گلوکز خون بين تمام گروه هاى تيمار با عصاره آبي برگ انگور سياه (T1، T2 و T3) در مقايسه با گروه شاهد ديابتى (S) بود. از ديگر نتايج روز 21

جدول 1: مقادير گلوکز خون حيوانات در گروه هاى مورد آزمون برحسب ميلي مول بر ليتر.

زمان	گروه ها	تيمار اول (T1)	تيمار دوم (T2)	تيمار سوم (T3)
روز 0	كترل (C)	شاهد (S)	تيمار اول (T1)	تيمار سوم (T3)
		24/73 ± 0/63	25/18 ± 0/67	23/67 ± 0/83
		α^{***}	α^{***}	α^{***}
روز 21	كترل (C)	شاهد (S)	تيمار اول (T1)	تيمار سوم (T3)
		5/63 ± 0/23	13/39 ± 0/78	17/25 ± 0/72
		α^{***}	$\alpha^{***}, \beta^{***}, \gamma^{***}$	$\alpha^{***}, \beta^{***}, \gamma^{**}, \delta^{**}$

تمام مقادير به صورت ميانگين ± خطاى استاندارد (Mean ± SEM) ارائه شده اند.

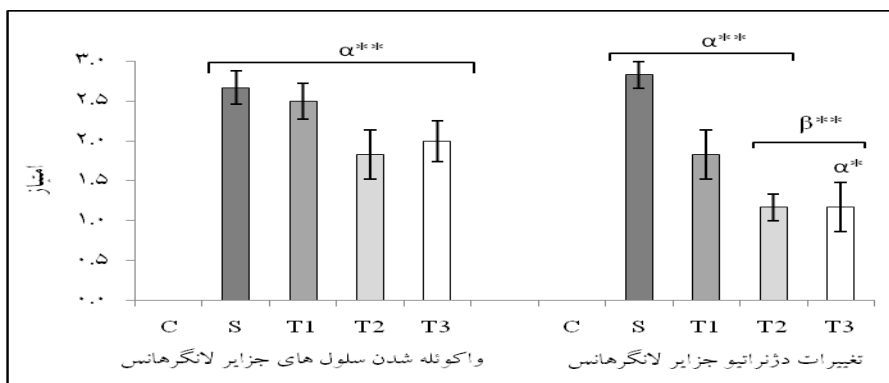
$P < 0/05^*$ ، $P < 0/01^{**}$ و $P < 0/001^{***}$ ، α ، β ، γ و δ به ترتيب در مقايسه با گروه هاى C، S، T1 و T2.

شدن سلول ها در حيوانات ديابتى، مربوط به گروه T2 (1/83 ± 0/31) بود.

بررسى تغييرات دژنراتيو جزاير لانگرهانس بين گروه هاى T2 و T3 در مقايسه با گروه S كاهش معنى دارى را نشان داد. همچنين كمترين اختلاف معنى دارى بين گروه C با ساير گروه ها، مربوط به گروه T3 (1/17 ± 0/31) بود (نمودار 1).

تغييرات هيستوپاتولوژيك پانكراس:

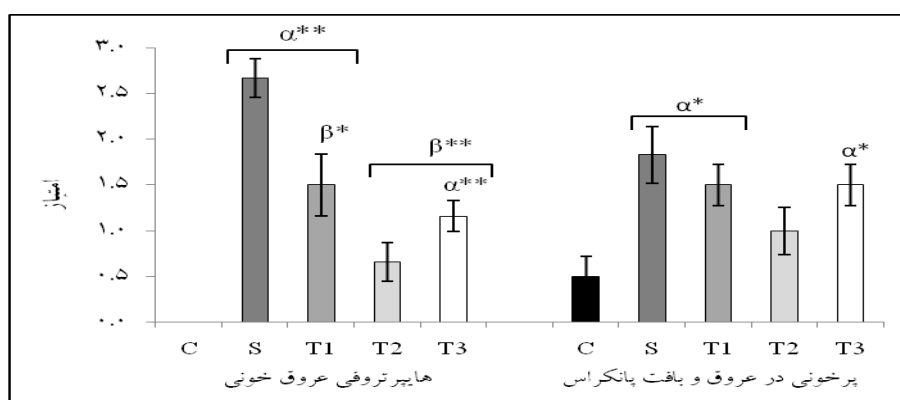
براساس نمودار 1، بررسى معيار واكوتله شدن سلول هاى جزاير لانگرهانس حيوانات در گروه هاى مورد مطالعه نشان داد كه در گروه هاى تيمار با عصاره آبي برگ انگور سياه نسبت به گروه شاهد (S)، واكوتله شدن سلول ها كاهش يافته ولى اين كاهش معنى دار نبوده است. كمترين امتياز واكوتله-



نمودار 1: امتياز معيارهاى واكوتله شدن سلول هاى جزاير لانگرهانس و تغييرات دژنراتيو جزاير لانگرهانس پانكراس حيوانات در گروه هاى مورد مطالعه. هر ستون نشان دهنده ميانگين ± خطاى استاندارد (Mean ± SEM) است. $P < 0/05^*$ و $P < 0/01^{**}$ و β به ترتيب در مقايسه با گروه هاى C و S.

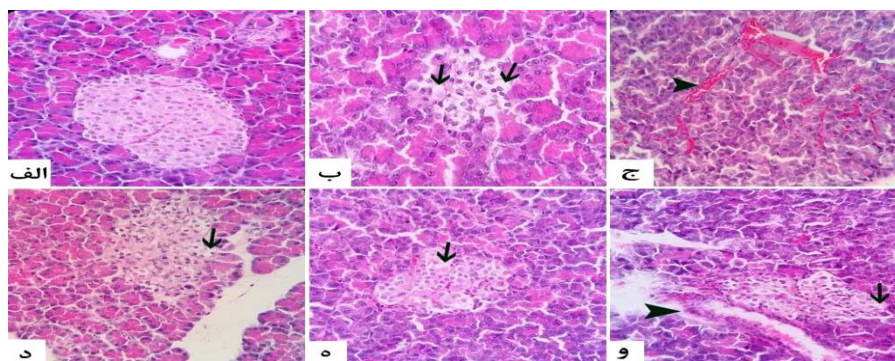
ارزیابی‌ها نشان داد که معیار پرخونی در عروق و بافت پانکراس در گروه‌های S، T1 و T3 در مقایسه با گروه C افزایش معنی‌داری یافته بود. کمترین امتیاز پرخونی در بین گروه‌های تیمار با عصاره مربوط به گروه T2 ($0/26 \pm$) بود به نحوی که پرخونی در گروه T2 نسبت به گروه S کاهش و نسبت به گروه C افزایش یافته بود اگر چه این اختلافات معنی‌دار نبود. همچنین امتیاز پرخونی بین گروه T3 با گروه T1 یکسان و برابر با $1/50 \pm 0/22$ بود (نمودار 2).

همانطور که در نمودار 2 نشان داده شده است، بین گروه‌های تیمار با عصاره آبی برگ انگور سیاه (T1، T2 و T3) با گروه S کاهش معنی‌داری در هایپرتروفی عروق خونی مشاهده شد، به نحوی که بیشترین کاهش به ترتیب مربوط به گروه T2 ($0/66 \pm 0/21$) و T3 ($1/16 \pm 0/17$) بود. یافته مهم دیگر این بود که بین گروه T2 در مقایسه با گروه C اختلاف معنی‌داری در معیار هایپرتروفی عروق خونی پانکراس وجود نداشت.



نمودار 2: امتیاز معیارهای هایپرتروفی عروق و پرخونی پانکراس حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه.

هر ستون نشان‌دهنده میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm SEM) است. $P < 0/05^*$ و $P < 0/01^{**}$ و β به ترتیب در مقایسه با گروه‌های C و S. تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت پانکراس حیوانات گروه‌های مطالعه از منظر میکروسکوپی در شکل 1 نشان داده شده است.



شکل 1: نمای میکروسکوپی از بافت پانکراس حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی 400x). گروه C: ساختار یک جزیره لانگرهانس نرمال نشان داده شده است (الف). گروه S: ایجاد واکوئل‌های متعدد (پیکان‌ها) و تغییرات شدید دژنراتیو (ب)، همراه با پرخونی در بافت پانکراس (نوک پیکان) نشان داده شده‌اند (ج). گروه T1: واکوئل‌شدن سلول‌ها (پیکان) و تغییرات شدید دژنراتیو قابل مشاهده‌اند (د). گروه T2: واکوئل‌شدن سلول‌ها (پیکان) و تغییرات خفیف دژنراتیو در یک جزیره لانگرهانس دیده می‌شود (ه). گروه T3: ایجاد واکوئل در سلول‌ها (پیکان) همراه با تغییرات خفیف دژنراتیو و هایپرتروفی خفیف تا متوسط عروق (نوک پیکان) نشان داده شده است (و).

بىحث

در اين مطالعه، افزايش معنى دار غلظت گلوکز خون در حيوانات ديابتى با آلوکسان نسبت به حيوانات سالم با يافته ساير محققان همخوانى داشت (21 و 20). به نظر مى رسد اين افزايش در سطح گلوکز خون ناشى از مکانيسم اثر آلوکسان بوده است، چرا که آلوکسان به علت شباهت ساختارى با گلوکز از طريق حامل گلوکز يعنى GLUT-2 برداشت و جذب سلول هاى بتاى پانکراس شده و در حضور تيول هاى داخل سلولى (به خصوص گلوکاتيون) با توليد زنجيره اى ROS، سبب تخریب سلول هاى بتاى پانکراس مى گردد که متعاقب آن توليد انسولين کاهش يافته و هايپرگلايسمى ايجاد مى شود (23 و 22). از آن جاى که آلوکسان و استرپتوزوتوسين دو آنالوگ سايتوتوکسيک گلوکز جهت القای ديابت نوع 1 تجربى از طريق تخریب انتخابى سلول هاى بتاى پانکراس هستند، در کشورهاى در حال توسعه (مانند ايران) به علت صرفه اقتصادى و در دسترس بودن استفاده از آلوکسان کاربرد بيشترى دارد (24). در انتهاى دوره مطالعه حاضر، سطح گلوکز خون حيوانات ديابتى کاهش يافته بود، اگرچه اين کاهش معنى دار نبود. به نظر مى رسد اين کاهش، ناشى از دوز تجويزى آلوکسان بوده است که با تخریب نسبى سلول هاى بتاى پانکراس القای دائمى ديابت را سبب شده است. لذا در اين شرايط، حيوانات ديابتى داراى سلول هاى بتاى نجات يافته بوده که کاهش قند خون را امکان پذير مى سازند (25).

کاستن از سطح گلوکز خون براى جلوگيرى يا کاهش عوارض ناشى از ديابت و نيز افزايش رضايت در بيماران مبتلا به ديابت به عنوان يک کليد عمل مى کند (20). رژيم هاى داروئى که در حال حاضر براى مديريت ديابت نوع 1 و کاهش قند خون استفاده مى شوند، داراى نقايص خاصى هستند که تحقيقات را جهت ساخت عوامل ضد ديابتى موثر تشويق مى کنند. از جمله اين تحقيقات، استفاده از گياهان براى کنترل ديابت است چراکه نسبت به داروهاى سنتتيک ايمن تر هستند (26). پژوهش هاى تجربى متعددى نشان داده-

اند که عصاره دانه انگور مى تواند سطح گلوکز خون حيوانات ديابتى را کاهش داده و به مقادير نرمال نزديک کند (28 و 27 و 11). همچنين، در تحقيقى که به بررسى تاثير عصاره ميوه انگور سياه بر موش هاى ديابتى شده با آلوکسان مى پرداخت، پژوهشگران اعلام کردند که اين عصاره مى تواند سبب کاهش قند خون شود (29). علاوه بر اين موارد، گزارش شده است که عصاره هاى ريشه و پوست ساقه درخت انگور سياه در کنترل غلظت گلوکز خون حيوانات ديابتى موثر هستند (31 و 30). هم راستا با مطالعات ذکر شده در خصوص اجزاى درخت انگور سياه، در مطالعه حاضر، عصاره آبي برگ انگور سياه سطح قند خون حيوانات ديابتى را کاهش داد به نحوى که دوزهاى 400، 600 و 200 ميلي گرم بر كيلوگرم از عصاره به ترتيب بهترين اثربخشى را از خود نشان دادند. نکته قابل توجه اين است که در تنها پژوهش انجام شده درباره تاثير عصاره آبي برگ انگور سياه بر ديابت القاى با استرپتوزوتوسين، دوز 250 ميلي گرم بر كيلوگرم از عصاره را در کاهش سطح گلوکز خون حيوانات ديابتى، موثر دانستند (14). احتمالاً اثر کاهندگى برگ انگور سياه بر قند خون مربوط به ترکيباتى نظير کاتچين، اپي کاتچين و اپي کاتچين گالات بوده است که با کاستن از جذب روده اى گلوکز و رزورناسيون سلول هاى بتاى پانکراس، مانع از افزايش سطح گلوکز خون مى شوند (32 و 10).

ديابت از جمله بيمارى هاى دژنراتيو با خاستگاه بافتى پانکراس است (33). مدل هاى تجربى ديابت (القاى با آلوکسان يا استرپتوزوتوسين) علاوه بر قابليت مانيتورينگ و مداخله يکسان، امکان دسترسى کامل به بافت منشاء بيمارى جهت انجام بررسى هاى بافت شناسى را فراهم مى کنند (34). مطالعات نشان داده اند که ويژگى هاى بارز هيستوپاتولوژى پانکراس در ديابت نوع 1 القاى با آلوکسان، تخریب سلولى، ايجاد تغييرات دژنراتيو و پرخونى بافتى مى باشند که نتايج مطالعه حاضر در همين راستا بود (36 و 35).

مهار تخریب سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین و نیز بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس در دیابت صورت گرفته است. در این میان، در پژوهشی که به بررسی تأثیر عصاره آبی هسته انگور سیاه بر تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس در دیابت نوع 1 پرداخته بود، محققان، عصاره را سبب افزایش تعداد سلول‌ها و مهار تخریب سلول‌های بتای پانکراس اعلام نمودند (37). همچنین، در تحقیقی که اثر روغن هسته انگور را بر هیستوپاتولوژی پانکراس حیوانات دیابتی مورد بررسی قرار داده بود، پژوهشگران، روغن هسته انگور را در کاهش پرخونی و ادم بافت پانکراس حیوانات دیابتی موثر دانستند (36). در مطالعه حاضر، آسیب بافتی کمتری در پانکراس گروه تیمار با دوز 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی برگ انگور سیاه (T1) نسبت به گروه S مشاهده شد، اگرچه این کاهش به استثنای معیار هایپرتروفی عروق خونی در سایر معیارهای هیستوپاتولوژیک (واکوتله شدن سلول‌های جزایر لانگرهانس، تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس و پرخونی در عروق و بافت پانکراس) معنی‌داری نبود. بهترین اثربخشی عصاره آبی برگ انگور سیاه بر بهبود معیارهای مورد ارزیابی هیستوپاتولوژیک پانکراس مربوط به دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بود. به نظر می‌رسد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (مانند فلاونوئیدها و فنول‌ها) موجود در برگ انگور سیاه با کمک به سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن از ROS تولیدی در پانکراس کاسته و از این طریق سبب

مطالعات مختصری پیرامون نقش درخت انگور و اجزای آن بر تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس در دیابت صورت گرفته است. در این میان، در پژوهشی که به بررسی تأثیر عصاره آبی هسته انگور سیاه بر تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس در دیابت نوع 1 پرداخته بود، محققان، عصاره را سبب افزایش تعداد سلول‌ها و مهار تخریب سلول‌های بتای پانکراس اعلام نمودند (37). همچنین، در تحقیقی که اثر روغن هسته انگور را بر هیستوپاتولوژی پانکراس حیوانات دیابتی مورد بررسی قرار داده بود، پژوهشگران، روغن هسته انگور را در کاهش پرخونی و ادم بافت پانکراس حیوانات دیابتی موثر دانستند (36). در مطالعه حاضر، آسیب بافتی کمتری در پانکراس گروه تیمار با دوز 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی برگ انگور سیاه (T1) نسبت به گروه S مشاهده شد، اگرچه این کاهش به استثنای معیار هایپرتروفی عروق خونی در سایر معیارهای هیستوپاتولوژیک (واکوتله شدن سلول‌های جزایر لانگرهانس، تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس و پرخونی در عروق و بافت پانکراس) معنی‌داری نبود. بهترین اثربخشی عصاره آبی برگ انگور سیاه بر بهبود معیارهای مورد ارزیابی هیستوپاتولوژیک پانکراس مربوط به دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بود. به نظر می‌رسد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (مانند فلاونوئیدها و فنول‌ها) موجود در برگ انگور سیاه با کمک به سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن از ROS تولیدی در پانکراس کاسته و از این طریق سبب

نتیجه‌گیری

اگرچه غلظت گلوکز خون و تغییرات هیستوپاتولوژیک حیوانات دیابتی تیمار با عصاره آبی برگ انگور سیاه (*Vitis vinifera*) نسبت به حیوانات دیابتی بدون تیمار با عصاره کاهش یافته بود اما دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم بهترین اثربخشی را در کاهش قندخون و کنترل ضایعات پاتولوژیک پانکراس نشان داد. در هر صورت، انجام مطالعات بیشتر جهت تفکیک و شناسایی اجزای فعال عصاره برگ انگور سیاه و نیز مکانیسم‌های عمل آنان بر روی دیابت ضروری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه آقای جواد بهشتی‌پور دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی واحد آزاد سندج با کد 11010501952042 می‌باشد. از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سندج جهت همکاری در انجام این پژوهش تشکر می‌نمایم. همچنین از آقای میلاد باینچو دانشجوی دکتری دامپزشکی واحد آزاد سندج به سبب همکاری در پیشبرد این پژوهش قدردانی می‌کنیم.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی را اعلام ننموده‌اند.

References

1. Bahobj Soldozi H, Jalili F, Sohrabi M, Keshtmand Z, Jalili C. The effects of crocin on the serum levels of sex hormone and NO in streptozotocin-induced diabetic rats. SJKU 2018; 23: 103-13. [In Persian]
2. Zimmet P, Alberti KG, Magliano DJ, Bennett PH. Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: facts and fallacies. Nat Rev Endocrinol 2016; 12: 616-22.
3. Qin N, Hu X, Li S, Wang J, Li Z, Li D, et al. Hypoglycemic effect of silychristin A from *Silybum marianum* fruit via protecting pancreatic islet β cells from oxidative damage and inhibiting α -glucosidase activity in vitro and in rats with type 1 diabetes. J Funct Foods 2017; 38: 168-79.

4. Paschou SA, Papadopoulou-Marketou N, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. On type 1 diabetes mellitus pathogenesis. *Endocr Connect* 2018; 7: R38-R46.
5. Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, Nogueira-Machado JA. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death Dis* 2018; 9: 119.
6. Kumar V. Antidyslipidemic and Antioxidant Activities of *Tinospora cordifolia* Stem Extract in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Indian J Clin Biochem* 2015; 30: 473-8.
7. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol* 2014; 4: 177.
8. Vazini H, Rahimi Esboei B. In vitro study of the effect of hydroalcoholic extracts of *Carum copticum* and *Ferula asafetida* against *Trichomonas vaginalis*. *SJKU* 2018; 23: 76-83. [In Persian]
9. Coklar H. Antioxidant capacity and phenolic profile of berry, seed, and skin of Ekşikara (*vitis vinifera* L) grape: Influence of harvest year and altitude. *Int J Food Prop* 2017; 20: 2071-87.
10. Nassiri-Asl M, Hosseinzadeh H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive constituents: an Update. *Phytother Res* 2016; 30: 1392-403.
11. Giribabu N, Karim K, Kilari EK, Kassim NM, Salleh N. Anti-inflammatory, antiapoptotic and proliferative effects of *Vitis vinifera* seed ethanolic extract in the liver of streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes in male rats. *Can J Diabetes* 2018; 42: 138-49.
12. Aouey B, Samet AM, Fetoui H, Simmonds MSJ, Bouaziz M. Anti-oxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of grapevine leaf extract (*Vitis vinifera*) in mice and identification of its active constituents by LC-MS/MS analyses. *Biomed Pharmacother* 2016; 84: 1088-98.
13. Pandey KB, Rizvi SI. Role of red grape polyphenols as antidiabetic agents. *Integr Med Res* 2014; 3: 119-25.
14. Orhan N, Aslan M, Orhan DD, Ergun F, Yesilada E. In-vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of grapevine leaves (*Vitis vinifera*) in diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 108: 280-6.
15. Borgohain MP, Chowdhury L, Ahmed S, Bolshette N, Devasani K, Das TJ, et al. Renoprotective and antioxidative effects of methanolic *Paederia foetida* leaf extract on experimental diabetic nephropathy in rats. *J Ethnopharmacol* 2017; 198: 451-9.
16. National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press, 2011: 11-40.
17. Wellington D, Mikaelian I, Singer L. Comparison of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *J Am Assoc Lab Anim* 2013; 52: 481-7.
18. Jafari Khatailou Y, Delirezh N, Farshid AA, Zafarshamspour S, Shahabi S. Effect of l-glutamine on fasting blood sugar and pathological lesions of autoimmune diabetes in male C57BL/6 mice. *Urmia Med J* 2012; 23: 133-40. [In Persian]
19. El-Tantawy WH, Soliman ND, El-naggar D, Shafei A. Investigation of antidiabetic action of *Antidesma bunioides* extract in type 1 diabetes. *Arch Physiol Biochem* 2015; 121: 116-22.
20. Ajiboye BO, Adeleke Ojo O, Adeyonu O, Imiere O, Emmanuel Oyinloye B, Ogunmodede O. Ameliorative activity of ethanolic extract of *Artocarpus heterophyllus* stem bark on alloxan-induced diabetic rats. *Adv Pharm Bull* 2018; 8: 141-7.

21. Ajiboye BO, Oloyede HOB, Salawu MO. Antihyperglycemic and antidyslipidemic activity of *Musa paradisiaca*-based diet in alloxan-induced diabetic rats. *Food Sci Nutr* 2018; 6: 137-45.
22. Gargouri M, Magne C, El Feki A. Hyperglycemia, oxidative stress, liver damage and dysfunction in alloxan-induced diabetic rat are prevented by *Spirulina* supplementation. *Nutr Res* 2016; 36: 1255-68.
23. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008; 51: 216-26.
24. Ighodaro OM, Adeosun AM, Akinloye OA. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina* 2017; 53: 365-74.
25. Yadav JP, Saini S, Kalia AN, Dangi AS. Hypoglycemic and hypolipidemic activity of ethanolic extract of *Salvadora oleoides* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Pharmacol* 2008; 40: 23-27.
26. Kaur N, Kishore L, Singh R. Antidiabetic effect of new chromane isolated from *Dillenia indica* L. leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *J Funct Foods* 2016; 22: 547-55.
27. Chis IC, Ungureanu MI, Marton A, Simearea R, Muresan A, Postescu ID, Decea N. Antioxidant effects of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 2009; 6: 200-4.
28. Giribabu N, Roslan J, Rekha SS, Salleh N. Methanolic seed extract of *Vitis vinifera* ameliorates oxidative stress, inflammation and ATPase dysfunction in infarcted and non-infarcted heart of streptozotocin-nicotinamide induced male diabetic rats. *Int J Cardiol* 2016; 222: 850-65.
29. Malekaneh M, Haratizadeh B, Miri M. Effects of black grapes juice extract on the blood biochemical factors in alloxan-induced diabetic and hyperlipidemic rats. *J Birjand Univ Med Sci* 2014; 20: 366-73. [In Persian]
30. Suresh K, Sunil S, Suman. Anti-diabetic potential of *Vitis vinifera* root extract against streptozotocin induced diabetic rats. *IJMMS* 2010; 3: 19-23.
31. Ahmed M, Chavan A, Lakshmikantha RY, Satwadi PR, Thimmappanahalli KB. Evaluation of antidiabetic activity of *Vitis vinifera* stem bark. *J Pharm Res* 2012; 5: 5239-42.
32. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Farkhondeh T. Catechin Treatment Ameliorates Diabetes and Its Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Dose Response* 2017; 15: 1-7.
33. Nathan DM. Diabetes: Advances in Diagnosis and Treatment. *Jama* 2015; 314: 1052-62.
34. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol* 2012; 166: 877-94.
35. Mir SH, Darzi MM. Histopathological abnormalities of prolonged alloxan-induced diabetes mellitus in rabbits. *Int J Exp Pathol* 2009; 90: 66-73.
36. Javadi S, Eftekhari A, Farshid AA. The effects of grape seed oil on histopathological changes of the pancreas, liver and plasma lipids in streptozotocin induced diabetic rats. *Urmia Med J* 2014; 25: 605-15. [In Persian]
37. Adam SH, Giribabu N, Kassim N, Kumar KE, Brahmayya M, Arya A, et al. Protective effect of aqueous seed extract of *Vitis Vinifera* against oxidative stress, inflammation and apoptosis in the pancreas of adult male rats with diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* 2016; 81: 439-52.

38. Lacerda DdS, Santos CF, Oliveira AS, Zimmermann R, Schneider R, Agostini F, et al. Antioxidant and hepatoprotective effects of an organic grapevine leaf (*Vitis labrusca* L.) extract in diabetic rats. *RSC Advances* 2014; 4: 52611-9.
39. Devi S, Singh R. Evaluation of antioxidant and anti-hypercholesterolemic potential of *Vitis vinifera* leaves. *Food Science and Human Wellness* 2017; 6: 131-6.