

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 اکرا دی²، 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 یی 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 کیلو گرم). عصاره آبی برگ انگور سیاه روزانه و از طریق گاواژ 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: واکوئله شدن سلول ها؛ تغییرات دژنراتیو؛ هایپرتروفی عروق و پرخونی.

یافته ها: سطح گلوکز خون در گروه T2 در مقایسه با سایر گروه ها 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 کیلو گرم 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

دیابت یکی از مهم ترین دلایل مرگ و میر در جهان بوده که شیوع بالایی دارد (1). تخمین زده می شود شیوع دیابت از 415 میلیون نفر در سال 2015 به 642 میلیون نفر در سال 2040 برسد (2). در میان انواع آن، دیابت نوع 1 به عنوان یک اختلال متابولیک مزمن شناخته شده است که مشخصه اصلی آن هایپرگلیسمی و تخریب سلول های بتای تولیدکننده انسولین در جزایر لانگرهانس پانکراس می باشد (3). در پاتوژنز بیماری عوامل متعددی دخیل هستند که می توان به فاکتورهای ژنتیکی (برای مثال، آنتی ژن های لکوسیت انسانی (HLA))، عوامل ایمنولوژیک (نظیر تحمل، ایمنی سلولی و هومورال)، گونه های فعال اکسیژن (ROS) و شرایط محیطی (ویروس ها، رژیم غذایی و فلور میکروبی روده) اشاره کرد (4و5).

از آنجائیکه دیابت نوع 1 پیش زمینه بسیاری از اختلالات دیگر همچون نفروپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی و ناراحتی های قلبی-عروقی می باشد (6)، لذا توجه به درمان دیابت و کاستن از مشکلات متعاقب آن ضروری می باشد. روند جهانی به منظور درمان انواع بیماری ها از داروهای شیمیایی به سمت استفاده از گیاهان دارویی سوق پیدا کرده است (7و8). انگور سیاه (*Vitis vinifera*) یک درخت چند ساله بومی آسیای صغیر بوده که از آنجا به سایر مناطق جهان معرفی شده است (9). از ساقه، میوه و برگ انگور در بهبود بسیاری از بیماری ها استفاده می شود. اثربخشی ساقه و میوه آن در درمان انواع سرطان ها، آسیب های کبدی، کنترل فشار خون، کاستن از آسیب به DNA، کنترل هایپرلیپیدمی و دیابت اثبات شده است (10و11). برگ انگور سیاه غنی از مواد معدنی و انواع ویتامین ها بوده که جهت درمان اسهال، استفراغ، درد معده و زردی از دیرباز در طب سنتی بسیاری از کشورهای خاورمیانه مورد استفاده قرار می گیرد (12). در خصوص تاثیر برگ انگور بر کنترل دیابت با وجود پتانسیل های آنتی اکسیدانی از جمله کوئرستین، میریستین و زورراترول و همچنین تاثیر بر روی تعدیل فعالیت های

آنزیم های مشارکت کننده در متابولیسم گلوکز گزارشاتی وجود داشته است (13و10).

با توجه به اینکه، تاکنون مطالعه ای چه در سطح ملی و چه در سطح جهانی پیرامون تاثیر برگ انگور بر سیمای پانکراس در دیابت نوع 1 تجربی صورت نگرفته است. لذا هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر عصاره آبی برگ انگور سیاه (*Vitis vinifera*) بر روی تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس موش های صحرایی نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع یک القایی با آلوکسان بود.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی- مداخله ای بود که بر روی 30 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (محدوده وزنی 250-200 گرم و دامنه سنی 6-8 هفته) خریداری شده از انستیتو پاستور ایران انجام پذیرفت. تمام حیوانات در طی مطالعه به آب سالم و کنساتره مخصوص (شرکت بهپور، تهران، ایران) به صورت آزادانه دسترسی داشته و تحت شرایط محیطی کنترل شده (دمای 21 ± 2 درجه سانتی گراد، 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی) نگهداری شدند. 7 روز بعد از سازگاری حیوانات با شرایط محیطی، مطالعه آغاز گردید.

آماده سازی عصاره آبی برگ انگور سیاه:

برگ انگور سیاه از مزارع منطقه اورامان تخت، شهری در غرب ایران، با مختصات جغرافیایی طول $46^{\circ}15'06.7''$ و عرض $35^{\circ}15'11.6''$ جمع آوری گردید. هویت این گیاه به تایید مرکز هرباریوم آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشگاه کردستان رسید. بعد از جمع آوری، برگ ها به مدت 72 ساعت درجای خنک و به دور از نور قرار گرفته و خشک گردیدند. سپس برگ ها آسیاب شده و پودر شدند. در ادامه به 500 گرم پودر برگ انگور سیاه 10 لیتر آب مقطر اضافه شده و به مدت 8 ساعت در حمام آب گرم 45°C قرار داده شد. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره 1 صاف شده و سپس بوسیله روتاری متصل به

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 غلظت‌های 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-آلد ریچ (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 اندازه‌گیری شد. موش‌های صحرایی 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:

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به 5 گروه جداگانه 6 تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (C): موش‌های سالمی که فقط آب مقطر را روزانه و به شکل گاواژ دریافت کردند؛ گروه شاهد (S): موش‌های دیابتی که صرفاً آب مقطر را روزانه و به صورت گاواژ دریافت کردند؛ گروه‌های تیمار اول (T1)، دوم (T2) و سوم (T3): موش‌های 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 اندازه‌گیری شد. در

این مطالعه ملاحظات اخلاقی جهت استفاده از حیوانات براساس پروتکل‌های بین‌المللی بود (16).

ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک پانکراس:

21 روز پس از شروع مطالعه، حیوانات گروه‌های 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 ارگان‌ها جدا گردید. بلافاصله جهت فیکساسیون، پانکراس‌های جدا شده به صورت جداگانه داخل فرمالین 10 درصد قرار داده شده و پس از طی 48 ساعت، داخل پارافین قالب‌بندی شدند. سپس از بلوک‌های پارافینی بوسیله میکروتوم برش‌هایی با ضخامت 5 میکرومتر تهیه و در ادامه توسط هماتوکسیلین-ئوژین (H&E) رنگ آمیزی شدند. از یک سیستم امتیازبندی نیمه کمی جهت ارزیابی معیارهای هیستوپاتولوژیک لام‌های 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: واکوئل شدن سلول-های جزایر لانگرهانس؛ تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس؛ هایپرتروفی عروق خونی و پرخونی در عروق و بافت پانکراس.

آنالیز آماری:

داده‌های حاصل از مطالعه به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SEM) گزارش شدند. جهت مقایسه میانگین داده‌های پارامتریک بین گروه‌ها 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، مقایسه‌های زوجی بین گروه‌ها با آزمون مان-ویتنی (Mann-Whitney) انجام پذیرفت. تمام بررسی‌های

آماري داده‌ها بوسیله نرم‌افزار SPSS 23 انجام و $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطوح گلوکز خون گروه‌های مورد مطالعه:

اندازه‌گیری سطح گلوکز خون حیوانات در روز 21 حاکی از کاهش معنی‌دار سطح گلوکز خون بین تمام گروه‌های تیمار با عصاره آبی برگ انگور سیاه (T1، T2 و T3) در مقایسه با گروه شاهد دیابتی (S) بود. از دیگر نتایج روز 21

کاهش معنی‌دار سطح گلوکز گروه T2 در مقایسه با گروه‌های T1 و T3 بود. بیشترین تغییر سطح گلوکز خون بین حیوانات دیابتی مربوط به گروه دریافت‌کننده عصاره آبی برگ انگور سیاه با دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم (T2) بود که سطح گلوکز این گروه در انتهای دوره (روز 21) نسبت به ابتدای دوره (روز صفر) مطالعه، 46/82 درصد کاهش یافته بود (جدول 1).

جدول 1: مقادیر گلوکز خون حیوانات در گروه‌های مورد آزمایش برحسب میلی‌مول بر لیتر.

زمان	کنترل (C)	شاهد (S)	تیمار اول (T1)	تیمار دوم (T2)	تیمار سوم (T3)
روز 0	5/47 ± 0/29	24/73 ± 0/63	23/87 ± 0/68	25/18 ± 0/67	23/67 ± 0/83
		α^{***}	α^{***}	α^{***}	α^{***}
روز 21	5/63 ± 0/23	23/39 ± 0/50	20/71 ± 0/65	13/39 ± 0/78	17/25 ± 0/72
		α^{***}	α^{***}, β^*	$\alpha^{***}, \beta^{***}, \gamma^{***}$	$\alpha^{***}, \beta^{***}, \gamma^{**}, \delta^{**}$

تمام مقادیر به صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SEM) ارائه شده‌اند.

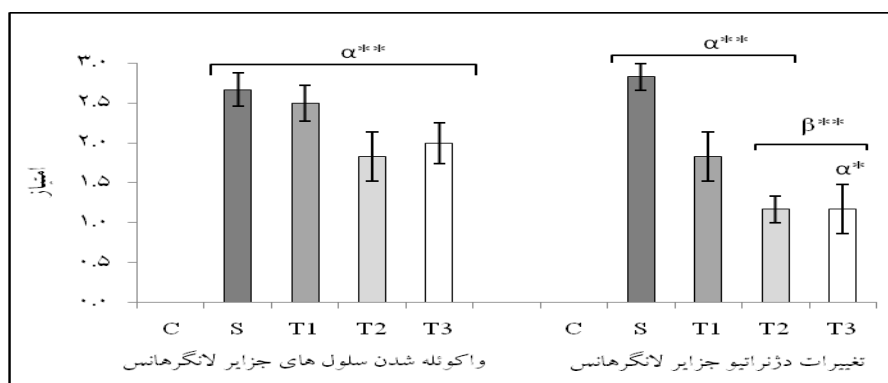
$P < 0/05^*$ ، $P < 0/01^{**}$ و $P < 0/001^{***}$ ، α ، β و δ به ترتیب در مقایسه با گروه‌های C، S، T1 و T2.

تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس:

براساس نمودار 1، بررسی معیار واکوئله‌شدن سلول‌های جزایر لانگرهانس حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که در گروه‌های تیمار با عصاره آبی برگ انگور سیاه نسبت به گروه شاهد (S)، واکوئله‌شدن سلول‌ها کاهش یافته ولی این کاهش معنی‌دار نبوده است. کمترین امتیاز واکوئله-

شدن سلول‌ها در حیوانات دیابتی، مربوط به گروه T2 (1/83 ± 0/31) بود.

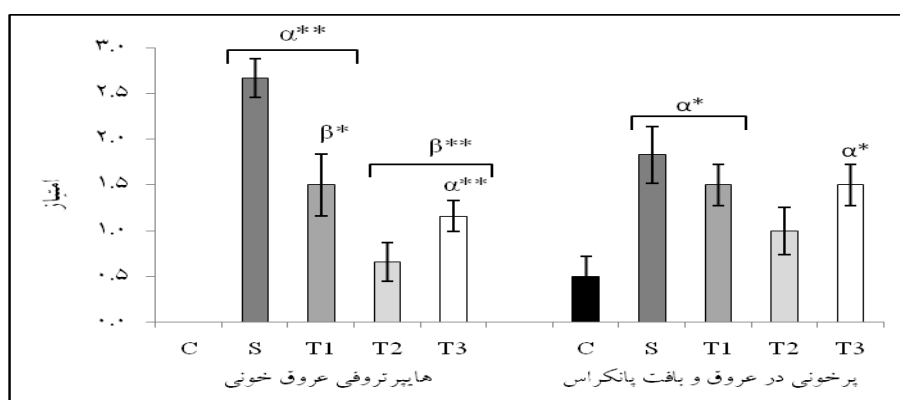
بررسی تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس بین گروه‌های T2 و T3 در مقایسه با گروه S کاهش معنی‌داری را نشان داد. همچنین کمترین اختلاف معنی‌داری بین گروه C با سایر گروه‌ها، مربوط به گروه T3 (1/17 ± 0/31) بود (نمودار 1).



نمودار 1: امتیاز معیارهای واکوئله‌شدن سلول‌های جزایر لانگرهانس و تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس پانکراس حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SEM) است. $P < 0/05^*$ و $P < 0/01^{**}$ و β به ترتیب در مقایسه با گروه‌های C و S.

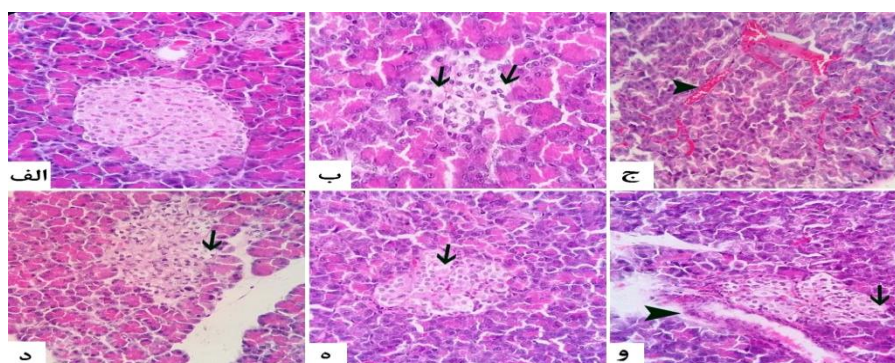
همانطور که در نمودار 2 نشان داده شده است، بین گروه-های تیمار با عصاره آبی برگ انگور سیاه (T1، T2 و T3) با گروه S کاهش معنی داری در هایپرتروفی عروق خونی مشاهده شد، به نحوی که بیشترین کاهش به ترتیب مربوط به گروه T2 ($0/66 \pm 0/21$) و T3 ($1/16 \pm 0/17$) بود. یافته مهم دیگر این بود که بین گروه T2 در مقایسه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

ارزیابی‌ها نشان داد که معیار پرخونی در عروق و بافت پانکراس در گروه‌های S، T1 و T3 در مقایسه با گروه C افزایش معنی داری یافته بود. کمترین امتیاز پرخونی در بین گروه‌های تیمار با عصاره مربوط به گروه T2 ($0/26 \pm 1/00$) 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 معنی دار نبود. همچنین امتیاز پرخونی بین گروه T3 با گروه T1 یکسان و برابر با $1/50 \pm 0/22$ بود (نمودار 2).



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

هر ستون نشان دهنده میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SEM) است. $P < 0/05^*$ و $P < 0/01^{**}$ و α 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 (رنگ آمیزی H&E، بزرگمایی 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).

بحث

در این مطالعه، افزایش معنی دار غلظت گلوکز خون در حیوانات دیابتی با آلوکسان نسبت به حیوانات سالم با یافته سایر محققان همخوانی داشت (21 و 20). به نظر می رسد این افزایش در سطح گلوکز خون ناشی از مکانیسم اثر آلوکسان بوده است، چرا که آلوکسان به علت شباهت ساختاری با گلوکز از طریق حامل گلوکز یعنی GLUT-2 برداشت و جذب سلول های بتای پانکراس شده و در حضور تیول های داخل سلولی (به خصوص گلو تاتیون) با تولید زنجیره ای ROS، سبب تخریب سلول های بتای پانکراس می گردد که متعاقب آن تولید انسولین کاهش یافته و هایپر گلاسمی ایجاد می شود (23 و 22). از آنجایی که آلوکسان و استرپتوزوتوسین دو آنالوگ سایتوتوکسیک گلوکز جهت القای دیابت نوع 1 تجربی از طریق تخریب انتخابی سلول های بتای پانکراس هستند، در کشورهای در حال توسعه (مانند ایران) به علت صرفه اقتصادی و در دسترس بودن استفاده از آلوکسان کاربرد بیشتری دارد (24). در انتهای دوره مطالعه حاضر، سطح گلوکز خون حیوانات دیابتی کاهش یافته بود، اگرچه این کاهش معنی دار نبود. به نظر می رسد این کاهش، ناشی از دوز تجویزی آلوکسان بوده است که با تخریب نسبی سلول های بتای پانکراس القای دائمی دیابت را سبب شده است. لذا در این شرایط، حیوانات دیابتی دارای سلول های بتای نجات یافته بوده که کاهش قند خون را امکان پذیر می سازند (25).

کاستن از سطح گلوکز خون برای جلوگیری یا کاهش عوارض ناشی از دیابت و نیز افزایش رضایت در بیماران مبتلا به دیابت به عنوان یک کلید عمل می کند (20). رژیم های دارویی که در حال حاضر برای مدیریت دیابت نوع 1 و کاهش قند خون استفاده می شوند، دارای نقایص خاصی هستند که تحقیقات را جهت ساخت عوامل ضد دیابتی موثر تشویق می کنند. از جمله این تحقیقات، استفاده از گیاهان برای کنترل دیابت است چرا که نسبت به داروهای سنتتیک ایمن تر هستند (26). پژوهش های تجربی متعددی نشان داده-

اند که عصاره دانه انگور می تواند سطح گلوکز خون حیوانات دیابتی را کاهش داده و به مقادیر نرمال نزدیک کند (28 و 27 و 11). همچنین، در تحقیقی که به بررسی تاثیر عصاره میوه انگور سیاه بر موش های دیابتی شده با آلوکسان می پرداخت، پژوهشگران اعلام کردند که این عصاره می تواند سبب کاهش قند خون شود (29). علاوه بر این موارد، گزارش شده است که عصاره های ریشه و پوست ساقه درخت انگور سیاه در کنترل غلظت گلوکز خون حیوانات دیابتی موثر هستند (31 و 30). هم راستا با مطالعات ذکر شده در خصوص اجزای درخت انگور سیاه، در مطالعه حاضر، عصاره آبی برگ انگور سیاه سطح قند خون حیوانات دیابتی را کاهش داد به نحوی که دوزهای 400، 600 و 200 میلی گرم بر کیلو گرم از عصاره به ترتیب بهترین اثربخشی را از خود نشان دادند. نکته قابل توجه این است که در تنها پژوهش انجام شده درباره تاثیر عصاره آبی برگ انگور سیاه بر دیابت القایی با استرپتوزوتوسین، دوز 250 میلی گرم بر کیلو گرم از عصاره را در کاهش سطح گلوکز خون حیوانات دیابتی، موثر دانستند (14). احتمالاً اثر کاهندگی برگ انگور سیاه بر قند خون مربوط به ترکیباتی نظیر کاتچین، اپی کاتچین و اپی کاتچین گالات بوده است که با کاستن از جذب روده ای گلوکز و رژنراسیون سلول های بتای پانکراس، مانع از افزایش سطح گلوکز خون می شوند (32 و 10).

دیابت از جمله بیماری های دژنراتیو با خاستگاه بافتی پانکراس است (33). مدل های تجربی دیابت (القایی با آلوکسان یا استرپتوزوتوسین) علاوه بر قابلیت مانیتورینگ و مداخله یکسان، امکان دسترسی کامل به بافت منشاء بیماری جهت انجام بررسی های بافت شناسی را فراهم می کنند (34). مطالعات نشان داده اند که ویژگی های بارز هیستوپاتولوژی پانکراس در دیابت نوع 1 القایی با آلوکسان، تخریب سلولی، ایجاد تغییرات دژنراتیو و پرخونی بافتی می باشند که نتایج مطالعه حاضر در همین راستا بود (36 و 35).

مهار تخریب سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین و نیز بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک می‌گردند (38 و 39).

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 هیچ گونه تضاد منافی را اعلام ننموده‌اند.

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 (واکنش‌شدن 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

References

1. Bahojb 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. 8nd 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, Zafarshamspoor 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 buniu*s 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, Simedrea 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.