



تحقیقی

## اثر عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه (*Launaea acanthodes*) بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و کلیوی موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با آلوکسان

جلال شکفته<sup>۱</sup>، دکتر راهله رهباریان<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران.

<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** نفروپاتی دیابتی با هیپرگلیسمی مزمن و بروز تغییرات معنی‌دار در شاخص‌های کلیوی شروع می‌شود که این مرحله نقطه عطف بین بروز علائم اولیه نفروپاتی دیابتی و آسیب‌های کلیوی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه (*Launaea acanthodes*) بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و کلیوی موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با آلوکسان انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در چهار گروه هشت تایی شامل گروه شاهد، گروه شاهد دیابتی و دو گروه تحت تیمار با عصاره آبی حاصل از ساقه و برگ گیاه چرخه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفتند. مدل دیابت تجربی در گروه‌های شاهد دیابتی و تحت تیمار، پس از ۱۶ ساعت ناشتایی، با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن القاء شد. پس از تأیید دیابت تجربی، پروسه تزریق آلوکسان به مدت ۳۰ روز و به صورت یک روز در میان ادامه پیدا کرد. پس از گذشت ۳۰ روز از پروسه دیابتی نمودن، پروسه تیمار به صورت یک روز در میان و به صورت داخل صفاقی با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گیاه چرخه انجام شد. پس از گذشت ۱۲ ساعت از روز سی‌ام، حیوانات بیهوش و پس از خونگیری از بطن چپ قلب، بافت کلیه برداشته شد. پلاسمای خون از نمونه‌های خون جداسازی و نیتروژن اوره خون، اوریک اسید و کراتینین اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت پروتئین نیز از روش برادفورد استفاده گردید، گلوکاتایون-s-ترانسفراز با استفاده از کیت زل بایو و کاتالاز بر اساس تجزیه پراکسید هیدروژن مورد سنجش قرار گرفتند. همچنین سوپراکسید دیسموتاز و میزان مالون‌دی‌آلدئید ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** افزایش معنی‌داری در میزان قندخون ناشتا و مالون‌دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون-s-ترانسفراز و کاتالاز در گروه شاهد دیابتی نسبت به شاهد سالم مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). تزریق وابسته به دوز عصاره آبی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن منجر به کاهش معنی‌دار قندخون ناشتا و مالون‌دی‌آلدئید و افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون-s-ترانسفراز و کاتالاز نسبت به شاهد دیابتی بودند ( $P < 0/05$ ). ارزیابی‌های بیوشیمیایی حاکی از افزایش معنی‌دار در گروه شاهد دیابتی نسبت به شاهد سالم در اوره خون، نیتروژن اوره خون، اوریک اسید و کراتینین بود ( $P < 0/05$ ). تزریق وابسته به دوز عصاره در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن منجر به کاهش معنی‌دار اوره خون، نیتروژن اوره خون، اوریک اسید و کراتینین گردید ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه به صورت وابسته به دوز، سبب کاهش هیپرگلیسمی، استرس اکسیداتیو و شاخص‌های کلیوی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** دیابت ملیتوس، استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان‌ها، آزمون‌های عملکرد کلیه، نفروپاتی دیابتی

\* نویسنده مسؤول: دکتر راهله رهباریان، پست الکترونیکی: a\_rahbarian@pnu.ac.ir

نشانی: مشهد، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۰۵۱-۳۸۶۸۳۹۰۰

وصول ۱۴۰۴/۳/۲۷ اصلاح نهایی ۱۴۰۴/۸/۱۱ پذیرش ۱۴۰۴/۸/۱۲ انتشار In Press

### مقدمه

در نهایت به پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطوح معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) منجر می‌گردد.<sup>۱</sup> در این میان، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ذاتی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون-s-ترانسفراز (GST) در برابر این طوفان

دیابت شیرین به عنوان اختلال متابولیک و مزمن، با ایجاد هیپرگلیسمی ناشتا ( $FBS > 126 \text{ mg/dl}$ )، طوفانی از گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) را به راه می‌اندازد که

چرخه در شروع مرحله گل‌دهی در نیمه اول اردیبهشت سال ۱۴۰۱ از حد فاصل جاده مشهد به نیشابور در موقعیت جغرافیایی ۳۵ تا ۳۶ درجه طول شمالی و ۵۸ تا ۵۹ درجه عرض شمالی به مساحت حدود ۷ هکتار جمع‌آوری شد. حداقل و حداکثر ارتفاع مناطق به ترتیب ۱۲۵۸ و ۱۴۸۲ متر از سطح دریا است. سپس نمونه‌ها توسط بخش هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد مورد شناسایی و با هرباریوم ۳۸۴۰۵ ثبت و مورد تایید قرار گرفت. پس از طی مراحل خشک شدن در سایه در دمای  $3 \pm 36$  درجه سانتی‌گراد، توسط آسیاب خرد شد. برای تهیه عصاره، ۵۰ گرم از پودر خشک‌شده برگ گیاه چرخه داخل بالن دستگاه سوکسله ریخته شد و به آن ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان حلال به آن اضافه گردید. آب مقطر توسط گرم‌کن دستگاه به جوش آمده و در نهایت عصاره جداسازی گردید. مبرد دستگاه وظیفه سرد نمودن بخارات اضافی را دارد که منجر به آهسته نمودن کاهش حجم محلول می‌شود. در نهایت، پس از گذشت تقریبی ۱۰ ساعت، مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. سپس با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام استخراج گردید. پس از حذف حلال، عصاره با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تهیه و با نرمال سالین به‌عنوان حلال دارو، ترکیب و سپس با عبور از فیلتر ۰/۲ میکرومتر استریل و سپس به گروه‌های دیابتی تزریق گردید. انتخاب دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره گیاه چرخه براساس شواهد علمی معتبر و پروتکل‌های تثبیت‌شده در مطالعات اخیر صورت گرفته است.<sup>۱۲</sup>

**حیوانات مورد استفاده و شرایط نگهداری:** پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. موش‌های صحرایی در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (رازی راد، ایران) با دمای محیطی ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۰-۳۵ درصد و دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طول مدت آزمایش، حیوانات با آب به مقدار کافی توسط بطری‌های پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتری و غذای فشرده مخصوص موش با فرمول استاندارد (دانه‌داران توس، ایران) تغذیه شدند. به‌منظور جلوگیری از خطاهای احتمالی ناشی از استرس و اضطراب حاصل از عدم سازش با محیط جدید، آزمایش پیش رو با گذشت حداقل ۱۰ روز بعد از استقرار حیوانات در محیط جدید آغاز گردید.<sup>۱۳</sup>

حیوانات به‌صورت تصادفی در چهار گروه هشت تایی به شرح زیر تقسیم شدند.<sup>۱۴</sup>

گروه اول: شاهد سالم.

گروه دوم: شاهد دیابتی.

گروه تیمار اول: دیابتی تحت تیمار با عصاره آبی حاصل از اندام هوایی گیاه چرخه ( $HPLC \geq 95\%$ ) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر

تضعیف می‌گردند.<sup>۲</sup> این تغییرات نه تنها متابولیسم را مختل می‌کنند؛ بلکه به اندام‌های حیاتی به‌ویژه کلیه‌ها، آسیب رسانده و با افزایش شاخص‌هایی نظیر نیتروژن اوره خون، اوره خون، کراتینین و اسید اوریک، به نفروپاتی دیابتی منجر می‌شوند. دیابت تنها به کلیه‌ها محدود نشده؛ بلکه عوارض سیستمیک آن از قلب تا مغز را در برمی‌گیرد.<sup>۳</sup> برای شناسایی این عوارض، روش‌های تشخیصی سنتی همانند تست تحمل گلوکز (Oral Glucose Tolerance Test: OGTT) و هموگلوبین A1c (درصد  $\geq 6/5$ ) همچنان پرکاربردند. این در حالی است که حسگرهای زیستی نوین مانند نانو بیوسنسورهای الکتروشیمیایی با دقت ۹۵ درصد<sup>۴</sup> و حسگرهای پوشیدنی که گلوکز را از طریق عرق ترش‌خورد ارزیابی قرار می‌دهند؛ تشخیص دیابت را متحول کرده‌اند.<sup>۵</sup> این ابزارهای هرچند پیشرفته هنوز با چالش‌هایی مانند هزینه و پایداری مواجه هستند که درمان‌های مکمل را ضروری می‌نمایند. در خط اول این درمان‌ها، عصاره‌های گیاهی همچون گزنه و رزماری به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی، درجه جدیدی از امید را در مدیریت دیابت ایجاد کرده‌اند. این گیاهان، در مطالعات پیش‌بالینی اثرات محافظتی خود را از هیپوگلیسمی تا تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی نشان داده‌اند.<sup>۶</sup> در این میان، عصاره گیاه چرخه (*Launaea acanthodes*) گیاهی بومی با سابقه‌ای طولانی در طب سنتی خاورمیانه، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه که در درمان دیابت و التهاب کاربرد دارد؛ به دلیل کمبود مطالعات آزمایشگاهی جامع در مدل‌های حیوانی دیابت، به‌ویژه دیابت ایجاد شده با آلوکسان مونوهیدرات، در سایه‌ها پنهان مانده است.<sup>۸</sup>

عصاره‌های گیاهی قادرند از طریق کاهش هیپوگلیسمی پیشرفت عوارض مرتبط با دیابت را کند نمایند؛<sup>۹</sup> اما داده‌های پیش‌بالینی برای گیاه چرخه به‌ویژه در مورد اثراتش بر قند خون، استرس اکسیداتیو (MDA، SOD، CAT، GST) و عملکرد کلیوی (نیتروژن اوره خون، اوره خون، کراتینین و اوریک اسید)، بسیار محدود است.<sup>۱۱</sup> این شکاف تحقیقاتی، فرصتی بی‌نظیر برای کشف پتانسیل درمانی این گیاه را فراهم می‌کند؛ به‌ویژه در مدل‌های حیوانی که می‌توانند مکانیسم‌های حفاظتی را روشن کنند. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و کلیوی موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با آلوکسان انجام شد.

## روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده سنی ۱۵-۱۴ هفته و محدوده وزنی  $16 \pm 148$  گرم در آزمایشگاه تحقیقات جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد انجام شد.

**روش جمع‌آوری و تهیه عصاره:** اندام هوایی (ساقه و برگ) گیاه

کیلوگرم وزن بدن.

گروه تیمار دوم: تحت تیمار با عصاره آبی حاصل از اندام هوایی گیاه چرخه (۹۵ درصد  $\geq$  HPLC) با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

گروه‌های شاهد سالم و شاهد دیابتی در طی ۳۰ روز و به صورت یک روز در میان، به روش داخل صفاقی، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالیسین (شرکت داروسازی ثامن، ایران) را دریافت کردند. این عمل به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. همچنین، دو گروه دیابتی تحت تیمار نیز در عرض ۳۰ روز و به صورت یک روز در میان و به روش داخل صفاقی عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن را دریافت نمودند.

**روش القاء دیابت تجربی:** مدل دیابت در گروه‌های شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه چرخه، پس از ۱۶ ساعت ناشتایی و با تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (سیگما-آلدریج، آلمان) به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن<sup>۴</sup> و با استفاده از بافر سترات (pH=۵/۴) به عنوان حلال آلوکسان، القاء گردید. برای اطمینان از دیابتی شدن نمونه‌ها، ۷۲ ساعت پس از تزریق آلوکسان و القاء دیابت تجربی، برای تایید دیابت، از ورید دمی خونگیری به عمل آمد و قندخون توسط دستگاه گلوکومتر (ایزی گلوکو، کره) اندازه‌گیری شد. قند خون ۳۰۰-۲۵۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد.<sup>۵</sup>

**معیارهای ورود و خروج نمونه‌های مورد مطالعه:** نمونه‌های مورد آزمایش با گذشت حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان، برای دیابتی شدن، از نظر معیارهای ورود و خروج در آزمایش مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌های دیابتی که معیار مطالعه را داشتند به آزمایش وارد شدند و نمونه‌هایی که قندخون آنها به دیابتی شدن نرسیده بود؛ نمونه‌های دارای قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به دلیل پرخاشگری و کوری و مرگ خودبخودی نمونه‌ها از مطالعه خارج شدند.

**سنجش‌های بیوشیمیایی:** در پایان این مطالعه و به دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی، با ارزیابی یکسری پارامترهای بیوشیمیایی خون (اوره، نیترژن اوره خون، اسید اوریک و کراتینین) از بروز نفروپاتی دیابت در حیوانات اطمینان حاصل کرده؛ سپس موش‌های صحرايي بیهوش و پس از خونگیری قلبی از بطن چپ، بافت کلیه از بدن خارج گردید. نمونه‌های خون بدون ماده ضدانعقاد به درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ دقیقه قرار داده شد. پس از انعقاد نمونه‌های خون، نمونه‌ها در سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۲ دقیقه قرار داده شدند. پس از طی مدت ۱۲ دقیقه، پلاسما خون

توسط پیپت از روی بخش لخته خون برداشته شد و به لوله آزمایش دیگری منتقل گردید. لوله‌ها از نظر سنجش آزمایش‌های بیوشیمیایی نیترژن اوره خون (BUN)، اوره، اسید اوریک، کراتینین (Cr) جداسازی و به آزمایشگاه تشخیص طبی منتقل گردید. سپس، بافت کلیه خارج شده، پس از شستشو با محلول سالیسین به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر (التراتوراکس T25 دیجیتال، آلمان) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده، سانتریفیوژ (هرمل Z366، آلمان) گردید. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفیوژ یخچال‌دار) انجام و از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (سیگما-آلدریج، آلمان) به عنوان مهارکننده پروتازها استفاده شد. پس از انجام سانتریفیوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا گردید، بخش زیرین رسوب کرده دور ریخته شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، گلوکوتایون S-ترانسفراز، کاتالاز و مالون‌دی‌آلدئید استفاده گردید.

فعالیت سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از کیت‌های شرکت راندوکس (راندوکس، انگلستان) و با کمک دستگاه فتومتر بیوشیمی (Stat Fax 2100، آمریکا) اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده گردید. برای این منظور ۲ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به ۴۰ میکرولیتر از محلول هموژنیزه بافتی اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه در دما آزمایشگاه انکوبه شد. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر و در مقابل معرف بلانک، جذب آن بررسی گردید. با انطباق درصد مهار روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به دست آمد و فعالیت آن برحسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافت (U/mg tissue protein) گزارش گردید.<sup>۶</sup>

فعالیت آنزیم گلوکوتایون S-ترانسفراز، با استفاده از کیت زل بایو (ساخت آلمان) سنجش گردید. به طوری که در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و جذب به دست آمده در پروتکل قید شده در دستورالعمل کیت، ضرب گردید و میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی (U/mg tissue protein) گزارش شد.<sup>۱۵</sup>

فعالیت آنزیم کاتالاز، بر اساس تجزیه پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و واکنش با اضافه کردن ۳۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن به حجم مناسبی از هموژن بافتی در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) انجام شد. سپس جذب نوری طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر بررسی و فعالیت آنزیمی برحسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی (U/mg tissue protein) محاسبه شد.<sup>۱۶</sup>

میزان مالون‌دی‌آلدئید براساس واکنش آن با تیوباریتوریک اسید

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون اس ترانسفراز بافت کلیه موش‌های صحرايي به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	شاهد سالم	شاهد دیابتی	میانگین و انحراف معیار
مالون دی آلدئید (nmol/mg)	۲/۵۸±۰/۷۰	۹/۰۴±۲/۳۸	تیمار اول دیابتی (دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)
سوپراکسید دیسموتاز (U/mg)	۵/۶۱±۱/۹۰	۰/۷۳±۰/۲۲	تیمار دوم دیابتی (دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)
کاتالاز (U/mg)	۳/۹۱±۱/۲۸	۰/۶۵±۰/۱۹	
گلوکاتایون s- ترانسفراز (U/mg)	۳/۶۲±۲/۴۴	۰/۴۰±۰/۱۰	

جدول ۲: مقایسه دو به دو مقادیر Error bar و LSD، p-value سطح قندخون ناشتا، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون اس ترانسفراز بافت کلیه در موش‌های صحرايي

متغیرها	گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم	P-value			LSD	Error basn (SD برای هر گروه)
		گروه تیمار اول در مقایسه با گروه شاهد دیابتی	گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه شاهد دیابتی	گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول		
قندخون ناشتا (mg/dl)	<۰/۰۰۱*	۰/۰۲۱*	۰/۰۷۰*	۰/۰۳۷*	۱۰/۲۴	شاهد سالم ±۱۰، شاهد دیابتی ±۲۰ تیمار اول ±۱۸، تیمار دوم ±۱۵
مالون دی آلدئید (nmol/mg)	<۰/۰۰۱*	۰/۰۱۴*	<۰/۰۰۱*	۰/۰۰۹*	۰/۱۵۴	شاهد سالم ±۰/۲، شاهد دیابتی ±۰/۳ تیمار اول ±۰/۲۵، تیمار دوم ±۰/۲
سوپراکسید دیسموتاز (U/mg)	<۰/۰۰۱*	۰/۰۰۳*	<۰/۰۰۱*	۰/۰۰۲*	۱/۰۲۴	شاهد سالم ±۲، شاهد دیابتی ±۱ تیمار اول ±۱/۵، تیمار دوم ±۱/۲
کاتالاز (U/mg)	<۰/۰۰۱*	۰/۰۰۷*	۰/۰۰۶*	۰/۰۰۱*	۱/۲۸	شاهد سالم ±۲/۵، شاهد دیابتی ±۱/۵ تیمار اول ±۲، تیمار دوم ±۱/۸
گلوکاتایون s- ترانسفراز (U/mg)	<۰/۰۰۱*	۰/۰۱۱*	<۰/۰۰۱*	۰/۰۹۸	۰/۵۱۲	شاهد سالم ±۱، شاهد دیابتی ±۰/۸ تیمار اول ±۱، تیمار دوم ±۰/۹

گروه‌های تیمار اول و دوم دیابتی به ترتیب دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن. P<۰/۰۵\*

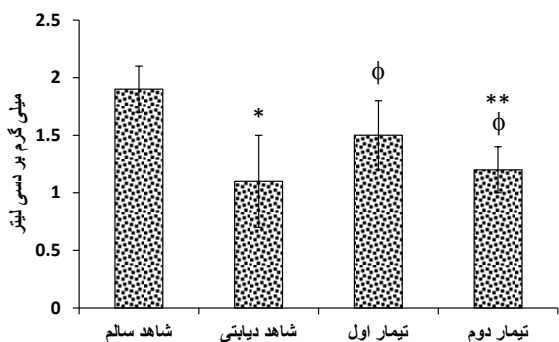
### یافته‌ها

میزان قندخون ناشتا در گروه شاهد دیابتی (۴۵۸±۱۶ mg/dl) در مقایسه با گروه شاهد سالم (۸۶/۳۳±۶/۳۳ mg/dl) در روز سی ام آزمایش به طور معنی داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۸) و این میزان در گروه دیابتی تحت تیمار با ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن (گروه تیمار اول، ۳۵۹/۳۳±۲۱/۱۵ mg/dl) در مقایسه با گروه شاهد سالم به طور معنی داری کاهش یافت (P<۰/۰۱۱) و این کاهش در گروه دیابتی تحت تیمار با ۳۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن (گروه تیمار دوم، ۱۷۴±۱۱/۰۸ mg/dl) در مقایسه با گروه شاهد سالم از معنی داری بیشتری برخوردار بود (P<۰/۰۰۷). در مقایسه بین دو گروه تیمار، گروه تیمار دوم نسبت به گروه تیمار اول کاهش معنی داری داشت (P<۰/۰۳۷).

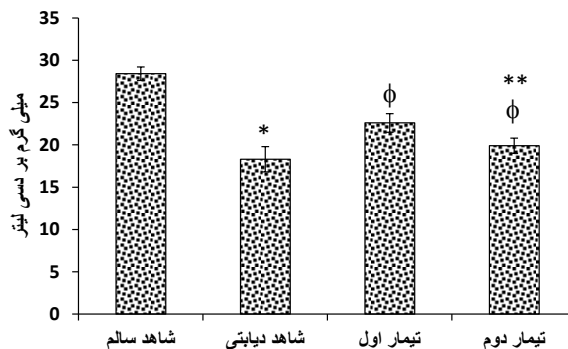
میزان مالون دی آلدئید در گروه شاهد دیابتی (۹/۰۴±۲/۳۸ nmol/mg) در مقایسه با گروه شاهد سالم (۲/۵۸±۰/۷۰ nmol/mg) به طور معنی داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۵). این میزان در گروه تیمار اول (P<۰/۰۱۴) و گروه تیمار دوم (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه شاهد سالم کاهش معنی داری نشان داد. در مقایسه بین دو گروه تیمار، گروه تیمار دوم نسبت به گروه تیمار اول کاهش معنی داری داشت (P<۰/۰۰۹) (جدول یک). فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گروه شاهد دیابتی (۰/۷۳±۰/۲۲ U/mg) در مقابل گروه شاهد سالم (U/mg)

در محلولی با دما ۹۰ درجه سانتی گراد با pH=۲-۳، به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. در اثر واکنش مربوطه در محلول موردنظر، رنگ صورتی ایجاد شد که این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل معرف بلانک توسط دستگاه اسپکتروفومتر (Aqualytic AL800، آلمان) مورد بررسی قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس رقت‌های تترا اتوکسی پروپان تهیه و جذب‌های نوری به دست آمده با منحنی استاندارد تطبیق داده شد. سپس، نتایج به صورت نانو مول در میلی گرم پروتئین بافتی (nmol/mg tissue protein) گزارش شد.<sup>۱۷</sup>

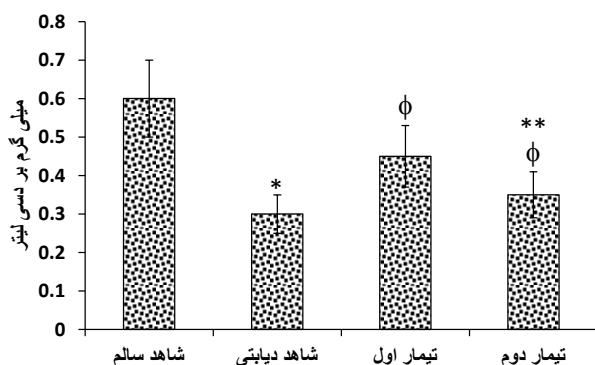
**آنالیز آماری:** داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار آماری GraphPad Prism-10 تحلیل شدند. داده‌ها با توجه به حجم پایین نمونه و کمی بودن نتایج به دست آمده، توسط آزمون شاپیرو-ویلک و براساس طبیعی یا غیر طبیعی بودن توزیع فراوانی داده‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین بین گروه‌های مورد آزمایش از آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه زوج گروه‌ها از آزمون تعقیبی حداقل تفاوت معنی دار فیشر استفاده شد. نتایج به دست آمده به همراه محاسبات آماری مربوطه به صورت انحراف معیار و میانگین گزارش شد. سطح معنی داری همه آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



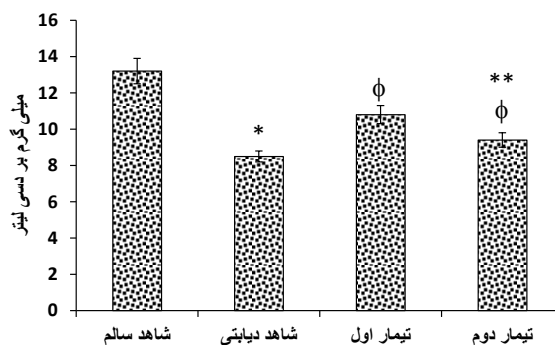
نمودار ۳: میانگین و انحراف معیار سطح اسیداوریک خون موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در گروه‌های مورد مطالعه  
 \*  $P < 0.001$  گروه شاهد دیابتی در مقایسه با شاهد سالم  
 φ  $P < 0.0001$  گروه‌های تیمار اول و تیمار دوم در مقایسه با شاهد سالم  
 \*\*  $P < 0.0022$  گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول  
 گروه‌های تیمار اول و دوم دیابتی به ترتیب دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.



نمودار ۱: میانگین و انحراف معیار سطح اوره خون موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در گروه‌های مورد مطالعه  
 \*  $P < 0.001$  گروه شاهد دیابتی در مقایسه با شاهد سالم  
 φ  $P < 0.0001$  گروه‌های تیمار اول و تیمار دوم در مقایسه با شاهد سالم  
 \*\*  $P < 0.0022$  گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول  
 گروه‌های تیمار اول و دوم دیابتی به ترتیب دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.



نمودار ۴: میانگین و انحراف معیار سطح کراتینین خون موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در گروه‌های مورد مطالعه  
 \*  $P < 0.001$  گروه شاهد دیابتی در مقایسه با شاهد سالم  
 φ  $P < 0.0001$  گروه‌های تیمار اول و تیمار دوم در مقایسه با شاهد سالم  
 \*\*  $P < 0.0032$  گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول  
 گروه‌های تیمار اول و دوم دیابتی به ترتیب دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.



نمودار ۲: میانگین و انحراف معیار سطح نیترژون اوره خون موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در گروه‌های مورد مطالعه  
 \*  $P < 0.0015$  گروه شاهد دیابتی در مقایسه با شاهد سالم  
 φ  $P < 0.0001$  گروه‌های تیمار اول و تیمار دوم در مقایسه با شاهد سالم  
 \*\*  $P < 0.0041$  گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول  
 گروه‌های تیمار اول و دوم دیابتی به ترتیب دریافت کننده عصاره آبی اندام هوایی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

اول ( $P < 0.007$ ) و گروه تیمار دوم ( $P < 0.006$ ) در مقایسه با گروه شاهد سالم افزایش آماری معنی‌داری یافت (جدول یک).

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز ( $P < 0.002$ ) و کاتالاز ( $P < 0.001$ ) در گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول افزایش آماری معنی‌داری یافت؛ اما فعالیت آنزیم گلوکوتایون-S-ترانسفراز در گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول یک).

میانگین اوره خون در گروه شاهد دیابتی ( $18.3 \pm 0.8$  mg/dl) در مقایسه با گروه شاهد سالم ( $28.4 \pm 1.5$  mg/dl) افزایش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.001$ ) (نمودار یک). میانگین اوره خون در گروه‌های تحت تیمار به صورت وابسته به دوز در گروه تیمار اول ( $22.6 \pm 1.1$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) و گروه تیمار دوم ( $19.9 \pm 0.9$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) در مقایسه با گروه شاهد سالم

( $5.61 \pm 1.90$ ) کاهش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.001$ ). فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گروه تیمار اول ( $P < 0.003$ ) و گروه تیمار دوم ( $P < 0.001$ ) در مقابل شاهد سالم افزایش آماری معنی‌داری یافت (جدول یک).

فعالیت آنزیم گلوکوتایون-S-ترانسفراز در گروه شاهد دیابتی ( $0.40 \pm 0.10$  U/mg) در مقایسه با گروه شاهد سالم ( $0.65 \pm 0.19$  U/mg) کاهش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.025$ ). فعالیت آنزیم گلوکوتایون-S-ترانسفراز در گروه تیمار اول ( $P < 0.011$ ) و گروه تیمار دوم ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با گروه شاهد سالم افزایش آماری معنی‌داری یافت (جدول یک).

فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه شاهد دیابتی ( $3.91 \pm 1.28$  U/mg) در مقایسه با گروه شاهد سالم ( $3.91 \pm 1.28$  U/mg) کاهش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.017$ ). فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه تیمار

آلوکسان علاوه بر القاء دیابت، موجب بروز تغییرات اولیه و معنی‌دار در شاخص‌های کلیوی درگیر در دیابت از طریق کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ذاتی و ایجاد استرس اکسیداتیو، بین گروه‌های شاهد سالم و دیابتی می‌شود. دیابت مزمن در شرایط هیپرگلیسمی پایدار، موجب تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد به ویژه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. این پدیده با کاهش سیالیت غشایی، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و مالون‌دی‌آلدئید در بافت‌های حیاتی به‌ویژه کلیه همراه است و یکی از مکانیسم‌های اساسی در بروز عوارض ناشی از دیابت به شمار می‌رود.<sup>۱۳</sup> یافته‌های مطالعه حاضر نیز در راستای این گزارش‌ها قرار دارد و نقش مهم اختلالات اکسیداتیو در پاتوژنز دیابت را تأیید می‌کند.

استفاده از گیاهان دارویی و غنی از ترکیبات پلی‌فنولی به‌ویژه فلاونوئیدها، به‌عنوان راهبردی برای کاهش استرس اکسیداتیو و محافظت بافتی مورد توجه پژوهشگران و متخصصین تغذیه قرار گرفته است. فلاونوئیدها به دلیل داشتن حلقه‌های فنولیک قادر به حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد هستند که علاوه بر آن، با مهار آنزیم‌های تولیدکننده گونه‌های فعال اکسیژن نظیر NADPH oxidase و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ذاتی شامل SOD، CAT و GST به بهبود تعادل سیستم ردوکس کمک می‌کنند.<sup>۱۷،۱۶</sup> همچنین گزارش‌هایی وجود دارد که این ترکیبات با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ PI3K/Akt و AMPK، موجب افزایش حساسیت به انسولین و بهبود عملکرد ناقل گلوکز-۲ در بافت‌های محیطی می‌شوند.<sup>۱۸</sup>

مطالعات مختلفی بر روی گیاه چرخه، چه با عصاره‌های هیدروالکلی و چه با عصاره آبی، نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. این یافته‌ها شامل کاهش قندخون، افزایش انسولین سرمی، کاهش سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده‌اند.<sup>۱۳،۱۶</sup> در برخی پژوهش‌ها علاوه بر نتایج بیوشیمیایی، شواهد هیستولوژیک نیز ارائه شده که نشان‌دهنده بهبود ساختار جزایر لانگرهانس، کاهش نکروز سلول‌های بتا و کاهش آسیب گلوامروولی کلیه بوده است.<sup>۱۲</sup> هرچند مطالعه حاضر فاقد داده‌های هیستولوژیک است؛ اما همخوانی نتایج بیوشیمیایی آن با چنین مطالعاتی نشان می‌دهد که اثرات محافظتی این گیاه احتمالاً در سطح بافتی نیز قابل انتظار باشد.

مقایسه گیاه چرخه با سایر گیاهان غنی از فلاونوئید دیدگاه روشن‌تری را فراهم می‌سازد. در مورد چای سبز (*Camellia sinensis*) گزارش شده که EGCG (Epigallocatechin gallate) به‌عنوان فلاونوئید اصلی با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت SOD و CAT و همچنین

کاهش آماری معنی‌داری یافت (نمودار یک). همچنین اوره خون در گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.0001$ ، نمودار یک).

میانگین نیتروژن اوره خون در گروه شاهد دیابتی ( $8.5 \pm 0.3$  mg/dl) در مقایسه با گروه شاهد سالم ( $13.2 \pm 0.7$  mg/dl) افزایش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.0015$ ) (نمودار ۲). میانگین نیتروژن اوره خون در گروه‌های تحت تیمار به‌صورت وابسته به دوز در گروه تیمار اول ( $10.8 \pm 0.5$  mg/dl،  $P < 0.0029$ ) و گروه تیمار دوم ( $9.4 \pm 0.4$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) در مقایسه با گروه شاهد سالم کاهش آماری معنی‌داری یافت (نمودار ۲). همچنین نیتروژن اوره خون در گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.0041$ ، نمودار ۲).

میانگین اسیداوریک در گروه شاهد دیابتی ( $1.1 \pm 0.2$  mg/dl) در مقابل شاهد سالم ( $1.9 \pm 0.4$  mg/dl) افزایش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.001$ ) (نمودار ۳). میانگین اسیداوریک در گروه‌های تحت تیمار به‌صورت وابسته به دوز در گروه تیمار اول ( $1.5 \pm 0.3$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) و گروه تیمار دوم ( $1.2 \pm 0.2$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) در مقایسه با گروه شاهد سالم کاهش آماری معنی‌داری یافت (نمودار ۳). همچنین اسیداوریک در گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.0027$ ، نمودار ۳).

میانگین کراتینین در گروه شاهد دیابتی ( $0.3 \pm 0.05$  mg/dl) در مقابل شاهد سالم ( $0.6 \pm 0.1$  mg/dl) افزایش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.0021$ ) (نمودار ۴). میانگین کراتینین در گروه‌های تحت تیمار به‌صورت وابسته به دوز در گروه تیمار اول ( $0.45 \pm 0.08$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) و گروه تیمار دوم ( $0.35 \pm 0.06$  mg/dl،  $P < 0.0001$ ) در مقایسه با گروه شاهد سالم کاهش آماری معنی‌داری یافت (نمودار ۴). همچنین کراتینین در گروه تیمار دوم در مقایسه با گروه تیمار اول کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.0039$ ، نمودار ۴). مقایسه دو به دو در شاخص‌های مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است.

## بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، تجویز عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مدل‌های دیابتی، منجر به بهبود شاخص‌های کلیوی درگیر در دیابت گردید. این اثر به‌طور عمده از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حاصل شد. از سوی دیگر، این عصاره با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و مهار استرس اکسیداتیو، توانست از آسیب‌های سلولی و مولکولی مرتبط با دیابت جلوگیری نماید.

گیاه در همان قاعده کلی عمل می‌کند و اثرات ضد دیابتی خود را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود عملکرد سلول‌های بتا و محافظت کلیوی اعمال می‌نماید. از آنجایی که استرس اکسیداتیو و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از مهم‌ترین مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک در بروز و پیشرفت نفروپاتی دیابتی محسوب می‌شوند؛ لذا عصاره آبی گیاه چرخه با تعدیل این مسیرها، پتانسیل بالایی برای جلوگیری از پیشرفت دیابت به مرحله نفروپاتی دیابتی دارد. بنابراین، استفاده از این عصاره به‌عنوان مکمل آنتی‌اکسیدانی در کنار داروهای ضد دیابت می‌تواند راهکاری مؤثر در کاهش و پیشگیری از عوارض کلیوی ناشی از دیابت باشد.

طراحی مطالعاتی برای تعیین اثر عصاره بر بیان ژن‌ها و پروتئین‌های کلیدی درگیر در استرس اکسیداتیو، التهاب و فیروز کلیوی و انجام مطالعات بالینی کنترل شده و بررسی‌های دقیق‌تر هیستولوژیک برای اثبات قطعی مکانیسم‌های یادشده و تعیین دوز و فرمولاسیون مناسب در جهت ورود عصاره در انسان ضروری است.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه به‌صورت وابسته به دوز، با کاهش هیپرگلیسمی، استرس اکسیداتیو و شاخص‌های کلیوی، می‌تواند از پیشرفت نفروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان جلوگیری کند.

#### ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه پیام نور (IR.PNU.REC.1403.317) قرار گرفت.

#### حمایت مالی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب مورخ ۱۴۰۳/۶/۲۴ دانشگاه پیام نور بود و مورد حمایت مالی (شماره ۴۸۴۹۷) دانشگاه پیام نور قرار گرفت.

#### مشارکت نویسندگان

**جلال شگفته:** انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج و نوشتن نسخه اولیه مقاله.

**دکتر راهله رهباریان:** مدیریت و طراحی پروژه، انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج و تایید نسخه نهایی مقاله.

#### تعارض منافع

بین نویسندگان مقاله تعارض منافع وجود ندارد.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب تشکر قدردانی خود را از دانشگاه پیام نور واحد مشهد برای همکاری در انجام این مطالعه اعلام می‌داریم.

بهبود ساختاری بافت پانکراس، از آسیب سلول‌های بتا جلوگیری می‌کند.<sup>۱۹</sup> در زردچوبه (*Curcuma longa*)، کورکومین علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی قوی، اثرات ضدالتهابی و ضد فیبروتیک نیز دارد و مطالعات هیستولوژیک نشان داده‌اند که مصرف آن موجب کاهش نفوذ سلول‌های التهابی در بافت کلیه و کاهش فیروز گلوامرولی می‌شود.<sup>۲۰</sup> در جینسینگ (*Panax ginseng*)، جینسنوزیدها علاوه بر افزایش سطح انسولین و کاهش سطح سرمی گلوکز، تغییرات بافتی مثبتی شامل کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های بتا و بازسازی نسبی جزایر لانگرهانس را نشان داده‌اند.<sup>۲۱</sup> این شباهت‌ها بیانگر آن است که گیاه چرخه احتمالاً از طریق مسیرهای مشابه، یعنی کاهش استرس اکسیداتیو، تعدیل پاسخ‌های التهابی و بهبود عملکرد پانکراس و کلیه عمل می‌کند.

اثر عصاره گیاه چرخه را می‌توان در چهار مرحله شامل: الف) کاهش استرس اکسیداتیو از طریق حذف ROS و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی؛ ب) اثر محافظتی بر روی پانکراس (شامل افزایش ترشح انسولین، کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و بهبود بیان ژن‌های اساسی نظیر GLUT-2 و PDX-1)؛<sup>۲۲</sup> ج) اثر محافظتی کلیوی (کاهش دفع آلبومین ادراری، مهار پراکسیداسیون لیپیدی و تعدیل فرآیندهای التهابی و فیبروتیک) و د) بهبود متابولیسم گلوکز در بافت‌های محیطی از طریق فعال‌سازی مسیر AMPK و افزایش حساسیت به انسولین خلاصه نمود. این مجموعه مکانیسم‌ها به‌طور همبستگی مثبت در کاهش قندخون و جلوگیری از پیشرفت عوارض ناشی از دیابت نقش دارند.<sup>۲۳</sup>

با وجود این شواهد، برخی محدودیت‌ها نظیر: الف) بررسی مسیرهای مولکولی دقیق در محافظت کلیوی نظیر NF- $\kappa$ B، Nrf2 و TGF- $\beta$  و همچنین بررسی و شناسایی ترکیبات فعال خاص در اثرات مشاهده شده؛ ب) اطمینان قطعی از عملکرد عصاره در مطالعات انسانی؛ ج) عدم گزارشات جامع در اثرات بلند مدت و عوارض احتمالی عصاره بر اندام‌های مختلف؛ د) ناهمگونی در روش استخراج (آبی در مقابل هیدروالکلی، دوز ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مسیر تجویز (خوراکی یا تزریقی) سبب شده مقایسه مستقیم نتایج دشوار باشد. اکثر پژوهش‌ها صرفاً بر شاخص‌های اکسیداتیو تمرکز داشته و بررسی جامع شاخص‌های التهابی و فیبروتیک کمتر انجام شده است. در حالی که این عوامل نقش مهمی در پیشرفت عوارض ناشی از دیابت دارند که بایستی مورد توجه قرار گیرند. در نهایت، یافته‌های مطالعه حاضر در مورد اثرات عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه چرخه با شواهد موجود از عصاره هیدروالکلی و همچنین با داده‌های هیستولوژیک مطالعات دیگر همخوانی دارد. همچنین مقایسه با دیگر گیاهان غنی از فلاونوئید نیز نشان داد که این

## References

- Shrivastav D, Mishra J, Sharma VK, Singh S, Khan MI, Alsanie SA, et al. Biochemical and Physiological Response During Oxidative Stress: A Cross-Species Perspective. *Rejuvenation Res.* 2026 Feb;29(1):29-39. <https://doi.org/10.1177/15491684251386712>.
- Ghasemi-Dehnoo M, Amini-Khoei H, Lorigooini Z, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2020 Oct;13(10):431-38. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.291036>.
- Romagnani P, Agarwal R, Chan JCN, Levin A, Kalyesubula R, Karam S, et al. Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2025 Jan;11(1):9. <https://doi.org/10.1038/s41572-025-00597-3>.
- Liu M, Song Y, Liu M, Deng D, Zhang W, Wang T, et al. The Application of Functional Nanomaterials-Based Electrochemical Biosensors in Detecting Cancer Biomarkers: A Review. *Molecules.* 2025 Jun;30(13):2708. <https://doi.org/10.3390/molecules30132708>.
- Akter A, Apu MMH, Veeranki YR, Baroud TN, Posada-Quintero HF. Recent Studies on Smart Textile-Based Wearable Sweat Sensors for Medical Monitoring: A Systematic Review. *Journal of Sensor and Actuator Networks.* 2024;13(4):40. <https://doi.org/10.3390/jsan13040040>.
- Gbadamosi IT, Adeyi AO, Oyekanmi OO, Somade OT. *Launaea taraxacifolia* leaf partitions ameliorate alloxan-induced pathophysiological complications via antioxidant mechanisms in diabetic rats. *Metabol Open.* 2020 Feb;6:100029. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100029>.
- Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iran J Basic Med Sci.* 2020 Sep;23(9):1100-12. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.45269.10541>.
- Rahbarian R, shegofte J. [Antioxidant effects of *Launaea acanthodes* (Boiss.) Kuntze plant on hormonal changes of testosterone in diabetic rats]. *Feyz Med Sci J.* 2025;29(1):12-22. <http://dx.doi.org/10.48307/FMSJ.2025.29.1.2>. [Article in Persian]
- Sekhon-Loodu S, Rupasinghe HPV. Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic and Antiobesity Potential of Selected Traditional Medicinal Plants. *Front Nutr.* 2019 Apr;6:53. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00053>.
- Putra IMWA, Fakhruddin N, Nurrochmad A, Wahyuono S. A Review of Medicinal Plants with Renoprotective Activity in Diabetic Nephropathy Animal Models. *Life (Basel).* 2023 Feb;13(2):560. <https://doi.org/10.3390/life13020560>.
- Mahmoud VL, Shayesteh R, Foong Yun Loh TK, Chan SW, Sethi G, Burgess K, et al. Comprehensive review of opportunities and challenges of ethnomedicinal plants for managing type 2 diabetes. *Heliyon.* 2024 Oct;10(23):e39699. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39699>.
- Marvibaigi M, Hosseini SM, Amini N. *Launaea acanthodes* (Boiss) O. Kuntze mediates hepatic glucose metabolism and ameliorates impaired pancreatic function in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2021 Mar; 268:113577. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113577>.
- Rahbarian R. [Studying the effect of hydroalcoholic extract of *Avicennia marina* leaves on antioxidant and renal indices in alloxan-induced diabetic rats]. *Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences.* 2024;12(3):77-90. <http://dx.doi.org/10.61186/jmsthums.12.3.27>. [Article in Persian]
- Fajarwati I, Solihin DD, Wresdiyati T, Batubara I. Self-recovery in diabetic Sprague Dawley rats induced by intraperitoneal alloxan and streptozotocin. *Heliyon.* 2023 Apr;9(5):e15533. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15533>.
- Flecknell P. *Laboratory animal anaesthesia.* 4<sup>th</sup> ed. London: Academic press. 2015.
- Hong Y, Boiti A, Vallone D, Foulkes NS. Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and Evolution. *Antioxidants (Basel).* 2024 Mar;13(3):312. <https://doi.org/10.3390/antiox13030312>.
- Trivedi R. The Role of Flavonoids in Mitigating Oxidative Stress: Mechanisms, Applications and Therapeutic Potential. *Asian Journal of Pharmaceutics.* 2025 Mar;19(1):125. <https://doi.org/10.22377/ajp.v19i01.6072>.
- Sefren Geiner T, Ari H, Hirofumi D, Dikdik K. A Comprehensive Review of Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Overview, Clinical Applications, Global Perspectives, Future Directions, and Mechanisms of Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds. *Journal of Chemistry.* 2024; 5594386. <https://doi.org/10.1155/2024/5594386>.
- Murdiono WE, Syafiqah Salman NA, Ab Razak NA, Effendy Halmi MI, Hong Yong JW, Jalil AMM, et al. Effects of leaf ages, altitude and clone types on nutrient elements and antioxidant activity of tea (*Camellia sinensis* L. (O) Kuntze) in tropical conditions. *Applied Food Research.* 2025 Dec;5(2):101110. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101110>.
- Rosyid Ridho MA, Indriani RD. The The Potential of *Curcuma longa* as an Antidiabetic Agent: Review: The Potential of *Curcuma longa* as an Antidiabetic Agent: Review. *Journal of Medicine and Health Technology.* 2025;2(1). <https://doi.org/10.12962/j30466865.v2i1.2383>.
- Han LH, Jin M, Qi X, Nan Z, Cui C. Ginseng flower total saponin extract alleviates type 1 diabetes mellitus-associated liver injury via PI3K/AKT/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway. *Journal of Agriculture and Food Research.* 2025 Oct; 23:102198. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.102198>.
- El-Fadaly AA, Younis IY, Abdelhameed MF, Ahmed YH, Ragab TIM, El Gendy AEG, et al. Protective Action Mechanisms of *Launaea mucronata* Extract and Its Nano-Formulation against Nephrotoxicity in Rats as Revealed via Biochemical, Histopathological, and UPLC-QTOF-MS/MS Analyses. *Metabolites.* 2023 Jun;13(7):786. <https://doi.org/10.3390/metabo13070786>.