

بررسی تاثیر ایندول و ۵-هیدروکسی ایندول ۲-کربوکسیلیک اسید بر روی رت های غیر دیابتی و دیابتی شده با آلوکسان

برچهره یغمایی^۱، آزاده ابراهیم حبیبی^۲، فرزانه آدینه^۳، معصومه نصراللهی^۴، نسیم حیاتی رود باری^۴

^۱ دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

^۲ دانشیار پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

^۳ کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

^۴ استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: دیابت قندی، شایع ترین بیماری متابولیسم غیر طبیعی کربوهیدرات است که به علت نقص در ترشح انسولین یا نقص در عملکرد و یا هر دو ایجاد می شود. مشخص شده است که ملاتونین می تواند در متابولیسم قند نقش داشته باشد. بنابراین در این مطالعه اثر ترکیبات واجد حلقه ایندول (پیش ساز ملاتونین) روی رت های غیر دیابتی و دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این پژوهش، رت های دیابتی و غیر دیابتی در ۴ گروه طبقه بندی شدند. گروه کنترل: رت های دیابتی و غیر دیابتی که روزانه آب و غذای معمولی دریافت کردند. گروه شم: رت های دیابتی و غیر دیابتی که روزانه ۰/۵ میلی لیتر روغن هسته ی انگور (به عنوان حلال ترکیبات ایندولی) دریافت کردند. گروه تجربی ۱ و ۲: رت های دیابتی و غیر دیابتی که به ترتیب روزانه ۴ mg/kg ایندول و ۴ mg/kg ۵-هیدروکسی ایندول ۲-کربوکسیلیک اسید (۵-HICA) در ۰/۵ میلی لیتر روغن هسته انگور دریافت کردند. برای دیابتی کردن از آلوکسان با یکبار تزریق دوز ۱۵۰ mg/kg به صورت IP استفاده شد. در این پژوهش میزان قند خون، میانگین مصرف آب و ادرار، سطح انسولین سرم، اندازه گیری شد و بررسی های هیستولوژیکی از پانکراس نیز صورت گرفت.

یافته ها: نتایج پس از تیمار ۳۰ روزه نشان داد در گروه تجربی ۱ دیابتی میزان قند خون، مصرف آب و ادرار به صورت معنی داری در $p < 0.001$ کاهش یافت. در حالی که سطح انسولین این گروه نیز افزایش یافت ($p < 0.001$). در گروه تجربی ۲ دیابتی اثری کمتری بر میزان انسولین، قند خون و مصرف آب و ادرار داشت. همچنین بررسی های بافت شناسی نشان دادند که ایندول در گروه تجربی ۱ دیابتی سبب ترمیم بافت پانکراس شده است.

نتیجه گیری: در این بررسی مشخص شد ایندول احتمالاً اثرات سودمندی در کاهش قند خون و افزایش سنتز انسولین و ترمیم پانکراس دارد.

کلمات کلیدی: دیابت، ایندول، ۵-هیدروکسی ۲-کربوکسیلیک اسید، آلوکسان، انسولین

مقدمه

پلی اوری (افزایش دفعات ادرار) و پلی فاژی (پر خوری) از عوارض آن می باشد (۱۷، ۶، ۱۰). غلظت گلوکز خون مهم ترین محرک تنظیمی برای ترشح انسولین سلول های بتای پانکراس است (۸). در حال حاضر درمان اصلی و موثر برای دیابت قندی استفاده از انسولین و عوامل هیپو گلیسمیک است، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعددی نظیر افزایش ذخایر چربی، تحلیل رفتن بافت چربی در

دیابت به عنوان یک اختلال متابولیسم کربوهیدرات (با توجه به ویژگی های مشخصه ی هایپر گلیسمیا) شناخته شده است. علاوه بر هایپر گلیسمیا، پلی دیپسیا (پرنوشی)،

آدرس نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد

علوم و تحقیقات تهران

Email: yaghmaei_p@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۸/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲۱

محل تزریق و شوک هیپو گلیسمیک بوده و در دراز مدت بر روند ایجاد عوارض ناتوان کننده دیابت تأثیری ندارد. با توجه به هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات موثر با حداقل عوارض جانبی در درمان دیابت و اختلالات ناشی از آن احساس می شود (۲۳). در سال ۱۹۳۰ ایندول در بسیاری از آلكالوئیدها از جمله اکسین یافت شد (۱۹) و مشخص گردید که مشتقات آن می تواند توسط روش های مختلفی سنتز شوند (۱۶،۷،۱۴). ایندول ها قوی ترین ترکیبات موجود در گیاهان و سبزیجات هستند که به طور گسترده بر روی سرطان و سایر اختلالات موثر هستند. این ترکیب در گیاهان چلیپایی به عنوان خاصیت ضد اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد آتروژن شناخته شده است که به طور مستقیم بر روی سلول های، سرطانی یا فعالیت سلول های ایمنی که حمله گر به سلول های غیر طبیعی هستند، اثر می گذارد (۱،۹). از ترکیبات ایندولی مورد بررسی در این پژوهش ایندول (C_8H_7N) و ۵-هیدروکسی ایندول ۲- کربوکسیلیک اسید (C_9H_7NO) است. آلوکسان ترکیبی است که سبب تخریب سلول های بتای جزایر لانگرهانس و شکل گیری رادیکال های آزاد می شود و بر روی سایر سلول های جزایر لانگرهانس اثری ندارد. این رادیکال های آزاد بسیار مخرب بوده و سبب گسیختگی یا شکست DNA خواهد شد که نتیجه ی آن تغییرات زیان بار در سلول های بتا است (۲۴).

مواد و روش ها

به منظور انجام آزمایشات، رت های نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. رت ها در درجه حرارت اتاق حیوانات 23 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. حیوانات به ۴ گروه غیر دیابتی و دیابتی تقسیم شدند که ۶ حیوان در هر گروه قرار داشت.

گروه های مورد بررسی در این آزمایش شامل:

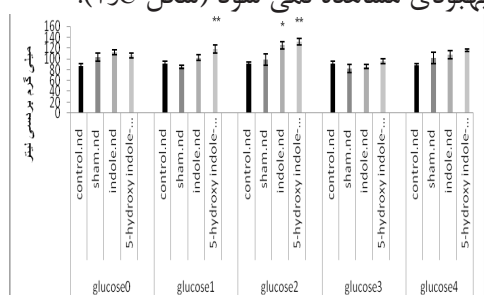
گروه کنترل غیر دیابتی: رت های غیردیابتی که هرروز آب و غذای معمولی دریافت کردند.
گروه شم غیر دیابتی: رت های غیر دیابتی که هرروز آب و

غذای معمولی و ۵،۰ سی سی روغن هسته انگور در یافت کردند. گروه تجربی ۱ غیر دیابتی: رت های غیر دیابتی این گروه هر روز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم indole در ۵،۰ سی سی حلال روغن به همراه آب و غذای معمولی دریافت کردند. گروه تجربی ۲ غیر دیابتی: رت های غیر دیابتی این گروه هر روز ۴ میلی گرم کیلوگرم ۵-carboxylic acid hydroxy-indole در ۵،۰ سی سی حلال روغن هسته انگور به همراه آب و غذای معمولی دریافت کردند. گروه کنترل دیابتی: رت های دیابتی که هرروز آب و غذای معمولی دریافت کردند. گروه شم دیابتی: رت های دیابتی این گروه هرروز آب و غذای معمولی و ۵،۰ سی سی روغن هسته انگور در یافت کردند.

گروه تجربی ۱ دیابتی: رت های دیابتی که هر روز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم indole در ۵،۰ سی سی حلال روغن به همراه آب و غذای معمولی دریافت کردند.

گروه تجربی ۲ دیابتی: رت های دیابتی این گروه هر روز ۴ میلی گرم کیلوگرم ۵-hydroxy-2-carboxylic acid indole در ۵،۰ سی سی حلال روغن هسته انگور به همراه آب و غذای معمولی دریافت کردند. برای ایجاد دیابت تیپ ۱ در رت ها از داروی آلوکسان مونوهیدرات استفاده شد. این دارو از طریق شرکت هرمز پژوهان و رویش دارو از شرکت آلد ریج خریداری شد. دیابت القا شده توسط آلوکسان از دوز 120 mg/kg آلوکسان به نسبت وزن موش ها آغاز شد که در این دوز، رت ها دیابتی نشدند و مجدداً با دوز 150 mg/kg (به ازای هر رت ۲۰۰ گرمی، ۳۰ میلی گرم آلوکسان استفاده شد) در ۵/۰ سی سی سرم فیزیولوژی دیابتی شدند. با گذشت ۷۲ ساعت بعد از تزریق، قند خون حیوانات توسط دستگاه گلوکومتر اندازه گیری شد و رت هایی که قند خونشان بیش از 200 mg/dl بود به عنوان حیوانات دیابتی در نظر گرفته شدند. در دوره تیمار ۳۰ روزه هر ۷-۵ روز یکبار قند خون رت توسط گلوکومتر اندازه گیری و ثبت شد. رت ها از آب شرب شهر تهران که در بطری های مدرج مخصوص حیوانات به آن ها داده می شد و غذایی که به صورت پلت های آماده در اختیار آن ها قرار می گرفت مصرف کردند که روزانه مصرف آب و

داری در سطح $p < 0.001$ نسبت به گروه شم داشت (نمودار E). در صورتی که میانگین میزان مصرفی آب و حجم ادرار افزایش معناداری در سطح ($p < 0.01$) نسبت به شم غیر دیابتی داشته است (نمودار D). یافته های ما در گروه تجربی دیابتی ۲ که ۲-Hydroxy indole-3-carboxylic acid را دریافت کردند نشان داد، میزان قند خون در طول دوره تیمار در سطح $p < 0.01$ و $p < 0.05$ نسبت به گروه شم دیابتی کاهش داشت اما در هفته پایانی تغییر معناداری نداشته است (نمودار C). در حالی که در گروه تجربی ۲ غیر دیابتی در هفته ی اول و دوم، گلوکز خون در سطح $p < 0.01$ نسبت به شم غیر دیابتی افزایش داشته و در پایان دوره تیمار بدون تغییر بوده است. همچنین سطح میزان انسولین در موش های دیابتی شده و غیر دیابتی در مقایسه با گروه کنترل به لحاظ آماری معنی دار نبود. گرچه افزایش در میزان سطح انسولین در گروه دیابتی مشاهده می شود اما این افزایش به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد (نمودار F). میانگین مصرف آب و ادرار در گروه تجربی دیابتی نیز تغییری نداشته است در حالی که در گروه غیر دیابتی نسبت به گروه شم در سطح $P < 0.001$ افزایش معنی داری داشته است (نمودار D). نتایج مطالعات هیستولوژیکی (شکل ۱) نشان داد که جزایر لانگرهانس در گروه کنترل، ظاهری کاملا طبیعی دارد (شکل A و ۱) تزریق آلوکسان در گروه های شم باعث تخریب و چروکیدگی بافت پانکراس شده (شکل B و ۱) و در گروه های تجربی ۱ دیابتی، بازسازی و ترمیم جزایر لانگرهانس صورت گرفته است (شکل D و ۱). در صورتی که در گروه های دیابتی که ۵-HICA دریافت کرده اند اثر بهبودی مشاهده نمی شود (شکل C و ۱).

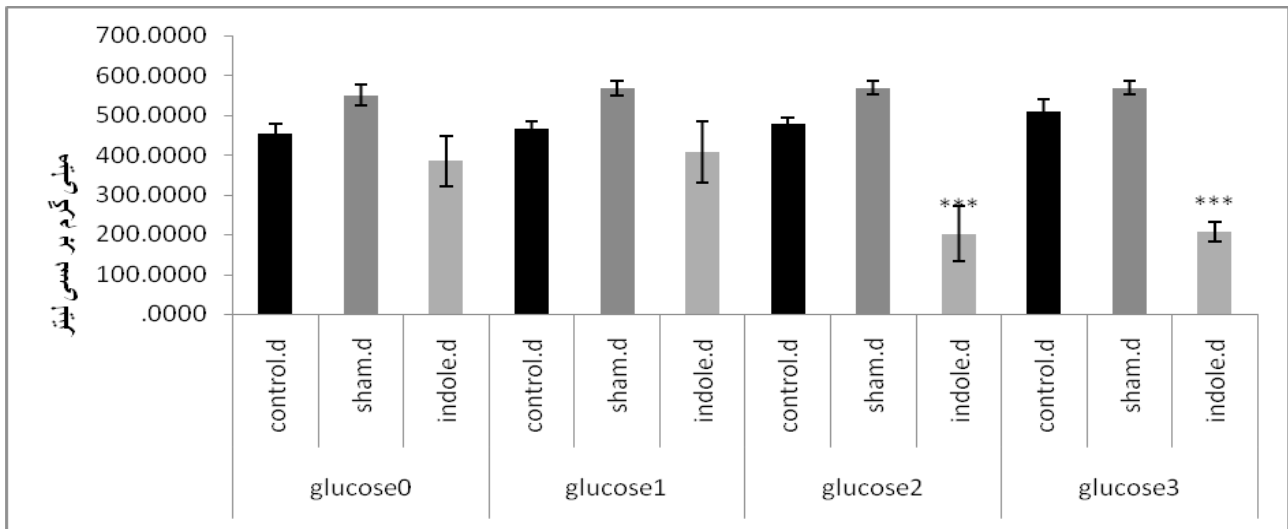


نمودار A - مقایسه میزان قند خون گروه های تجربی غیر دیابتی ۱ و ۲ در نر با گروه شم غیر دیابتی ($n=6$) و (mean±SEM). ($p < 0.05$) * و ($p < 0.001$) ***.

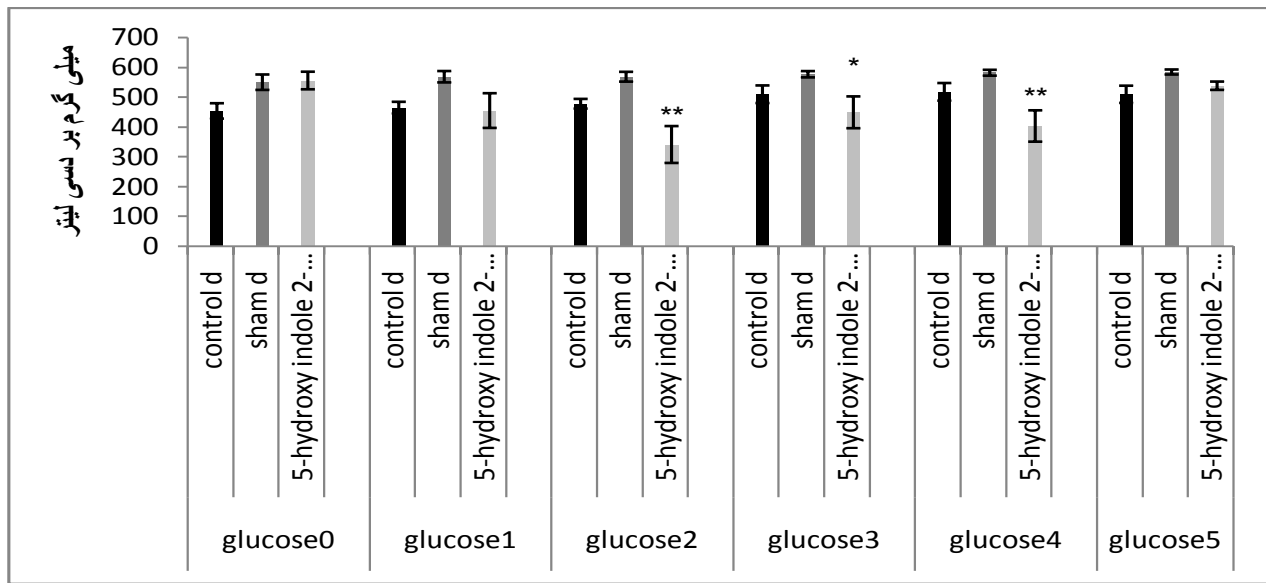
حجم ادرار توسط قفس متابولیک اندازه گیری شد. پس از اتمام مدت زمان تیمار، از قلب رت ها جهت اندازه گیری، خون گرفته شد و سرم آن با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه توسط سانتریفیوژ جدا گردید و با استفاده از کیت انسولین رت آلپکو (ALPCO) میزان انسولین به روش الیزاندازه گیری شد. پس از آخرین خون گیری، رت ها به وسیله ی کلروفورم بی هوش شده و پانکراس آن ها خارج گردید و با محلول سرم فیزیولوژیک شسته و به منظور آب گیری و آماده شدن جهت مقاطع میکروسکوپی در فرمالین ۱۰ در صد قرار داده شده در مرحله ی بعدی از بافت های آب گیری شده، برش هایی با ضخامت ۶-۷ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی گردیدند. از لام های آماده شده به طور تصادفی، در زیر میکروسکوپ نوری (Nicon) با بزرگنمایی $\times 400$ عکس برداری و مطالعه شد. تمامی داده ها از نظر آماری با استفاده از نرم افزار و spss آنالیز واریانس یک طرفه (one-way-anova) و تست tukey بررسی شدند و نتایج به صورت $mean \pm sem$ ارائه شده و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در گرفته شد و نمودار ها با استفاده از نرم افزار excel ترسیم گردید.

یافته ها

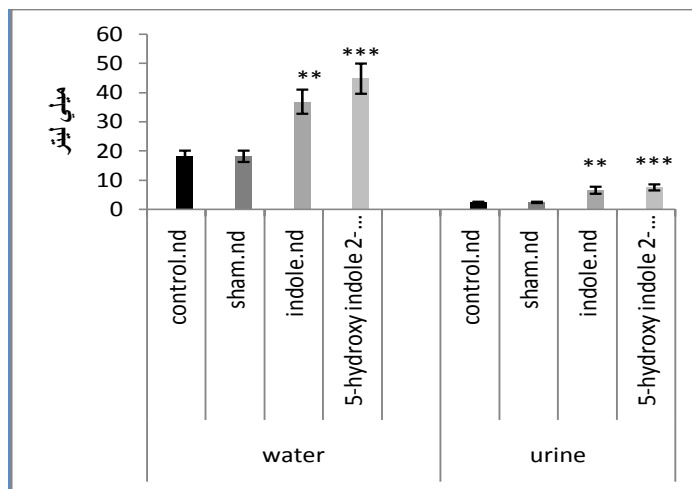
در این بررسی نتایج نشان داد، indole در گروه دیابتی باعث کاهش معنی دار قند خون در سطح $p < 0.001$ نسبت به گروه شم دیابتی شده است (نمودار B). همچنین ایندول، میزان قند خون را در گروه غیر دیابتی با افزایش معنی دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه شم غیر دیابتی نشان داده است (نمودار A). درحالیکه در مراحل پایانی تیمار، میزان گلوکز خون تغییری نداشته است (نمودار A). در گروه دیابتی همچنین باعث افزایش معناداری در سطح انسولین ($p < 0.001$) نسبت به گروه شم دیابتی شده است. در صورتی که سطح انسولین در گروه تجربی ۱ غیر دیابتی (ایندول) تاثیر معناداری نسبت به شم غیر دیابتی نداشته است. از طرف دیگر، مطالعه حاضر نشان داد میزان میانگین مصرف آب و ادرار گروه دیابتی تیمار شده با indole در ابتدا، مانند گروه شم بالا بوده اما طی ۳ هفته کاهش معنا



نمودار B - مقایسه ی میزان قند خون گروه تجربی دیابتی ۱ رت نر با گروه شم دیابتی (n=۶) و (mean±SEM). ($p < 0.05$ * و $p < 0.01$ ** و $p < 0.001$ ***).

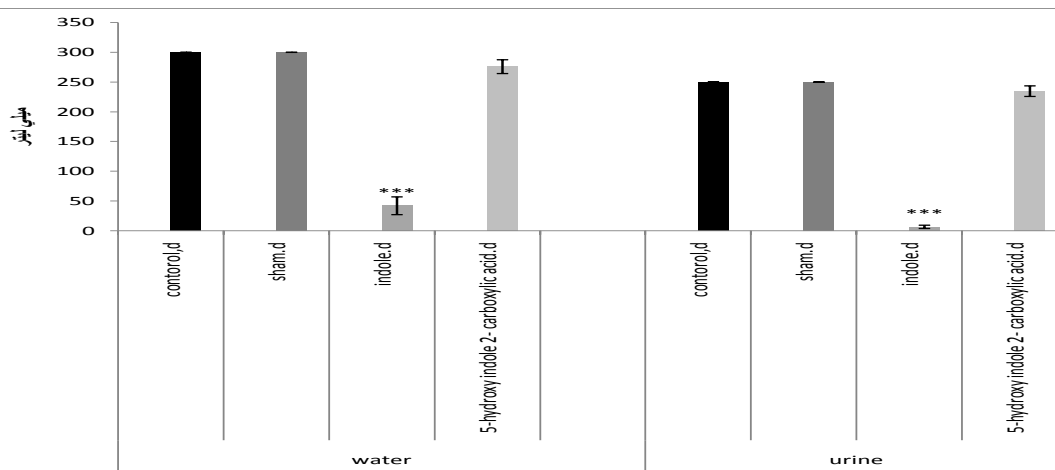


نمودار C - مقایسه میزان قند خون گروه تجربی دیابتی ۲ با گروه شم دیابتی (n=۶) و (mean±SEM). ($p < 0.05$ * و $p < 0.01$ ** و $p < 0.001$ ***).

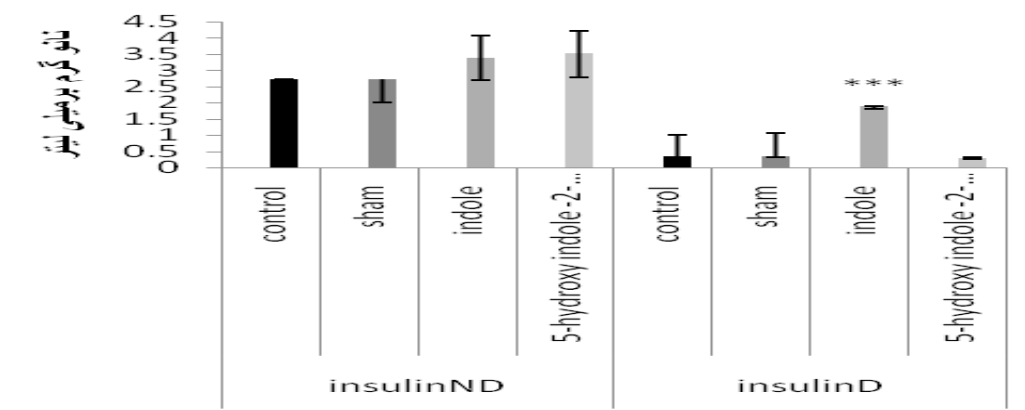


نمودار D - مقایسه میانگین میزان آب و ادرار گروه تجربی غیر دیابتی ۱ و ۲ با گروه شم غیر دیابتی (n=۶) و (mean±SEM). ($p < 0.05$ * و $p < 0.01$ ** و $p < 0.001$ ***).

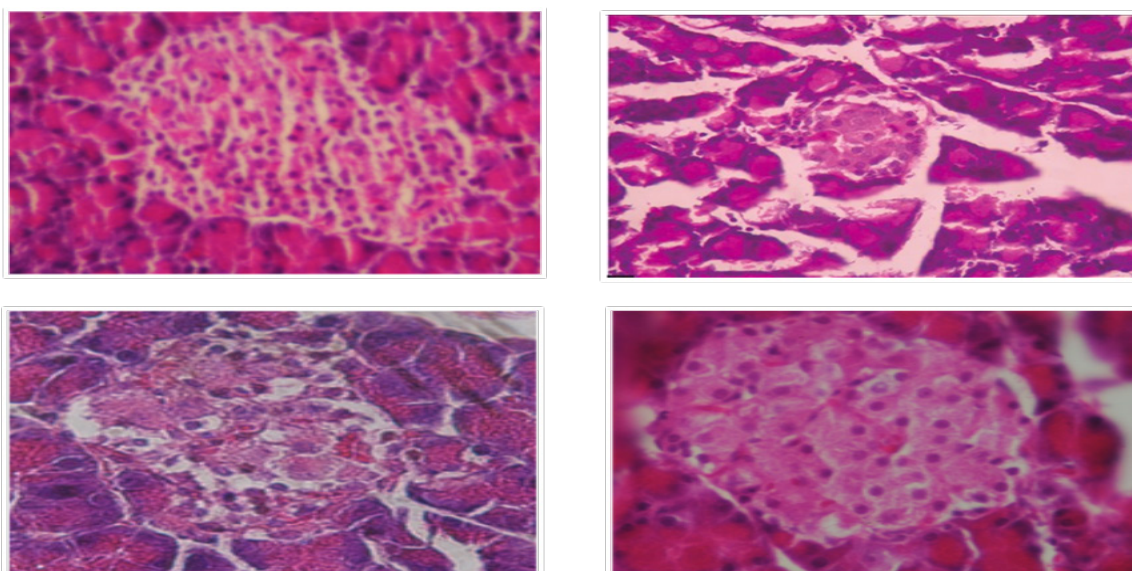
($p < 0.001$ ***).



نمودار E - مقایسه میانگین میزان آب و ادرار گروه تجربی دیابتی ۱ و ۲ با گروه شم دیابتی (n=۶) و (mean±SEM). ($p < 0.05$ و $p < 0.01$ و $p < 0.001$).



نمودار F - مقایسه سطح انسولین گروه های تجربی دیابتی و غیر دیابتی ۱ و ۲ با گروه شم دیابتی و غیر دیابتی (n=۶) و (mean±SEM). ($p < 0.05$ و $p < 0.01$ و $p < 0.001$).



شکل ۱- فتومیکروگراف برش عرضی مقطع بافت پانکراس با رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین (H&E) با بزرگنمایی ۴۰. مشاهده با میکروسکوپ نوری. (A) گروه شم غیر دیابتی که دارای جزایر سالم و آسیب ندیده اند هستند، (B) گروه شم دیابتی که دارای جزایر آسیب دیده هستند، (C) گروه تجربی ۲ دیابتی بیمار شده با ۵-هیدروکسی ایندول-۲- کربوکسیلیک اسید با دوز ۴ mg/kg (D) گروه تجربی ۱ دیابتی بیمار شده با ایندول با دوز ۴ mg/kg

بحث

دیابت اکنون یکی از شایع ترین بیماری های غدد درون ریز در جهان است (۵). دیابت ملیتوس تهدید بزرگی برای سلامتی انسان همراه با عوارضی در طول زندگی است. درجه شیوع دیابت در دو دهه گذشته افزایش یافته است و به طور کلی تغییرات بیان شده در فاکتورهای محیطی به طور محدودی از دیابت نتیجه گرفته شده است. فاکتورهای محیطی از جمله زندگی شبانه، سبک زندگی غیر متحرک، تغذیه کامل و پر چرب، چاقی هستند که با افزایش شیوع دیابت مرتبط هستند (۳). تحقیق حاضر نشان داد که ایندول به مدت ۳۰ روز به موش های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان علاوه بر اثر هیپوگلیسمیک، انسولین سرم را به صورت معنی داری نسبت به گروه کنترل و شم افزایش داده است ($P < 0.001$). همچنین از نتایج بافت شناسی در این تحقیق می توان نتیجه گرفت که از ساز و کارهای ایندول باز سازی و ترمیم جزایر لانگرهانس است. در بیماری دیابت نوع ۱، کاهش میزان آنتی اکسیدان ها و افزایش تولید محصولات پر اکسیداسیون لیپیدی بستگی به میزان کنترل قند خون دارد. دیابت قندی با تشدید استرس اکسیداتیو همراه است. Stetinova و همکارانش در سال ۲۰۰۲ گزارش داده اند که مشتقات ایندول مثل indole-2-acid-carboxylic میزان گلوکز خون را به میزان ۷٪ کاهش می دهد (۲). در این گزارش نیز موش ها به وسیله آلوکسان دیابتی شده بودند. در تحقیق حاضر indole یکی از پیش ساز های هورمون ملاتونین اثر کاهشی در سطح $p < 0.001$ در میزان قند خون رت های دیابتی شده با آلوکسان داشته است. Ganu GP و همکارانش در سال ۲۰۱۱ گزارش دادند آنالوگ indole-3-carbinol اثرات حفاظتی در برابر هایپرگلیسمیا در رت های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین دارند (۱۳). در تحقیق حاضر اثر حفاظتی indole در برابر هایپرگلیسمیا در رت های دیابتی شده با آلوکسان مشخص شد. قابل ذکر است که استرپتوزوتوسین از طریق ترانسپورتر گلوکز (Glut2) وارد سلول های بتای پانکراس می شود و یک عامل DNA-alkylating با تخریب

DNA و سلول های بتای پانکراس است اما آلوکسان با تولید رادیکال های آزاد اکسیژن سبب تخریب DNA سلول های بتای پانکراس می شود. Heroiz و همکارانش در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند ایندول آمین ها مثل تریپتامین، سروتونین، ملاتونین، ایندول آمین مثل L-tryptophan و N-acetyl tryptophan و tryptophan ethyl ester و ایندول الکل ها از جمله indole-3-carbinole و پپتید های کوتاه با محتوای تریپتوفان، pridoinole آلکالوئید هایی از جمله pinoline غده پینه ال به عنوان از بین برنده رادیکال آزاد و آنتی اکسیدانی شناخته شدند (۱۲). از آنجایی که این ترکیبات آنتی اکسیدان های قوی هستند، می توانند اختلال هایی از جمله بیماری های قلبی و کلسترول بالا و دیابت را از بین ببرند. بنابراین، این ترکیبات می توانند با اثر آنتی اکسیدانی و از بین بردن رادیکال آزاد بر روی دیابت القا شده توسط آلوکسان و کاهش قند خون نیز نقش داشته باشند. Sabu و همکارانش در سال ۲۰۰۲ ثابت کردند که خاصیت ضد دیابتی با خاصیت آنتی اکسیدانتی ارتباط دارد (۱۸). ترکیبات آنتی اکسیدانتی بر باز سازی و ترمیم سلول های بتای لوزالمعده موثرند. همانطور که نتایج مطالعات بافت شناسی نشان می دهند، ایندول در گروه تجربی ۱ دیابتی توانسته سلول های بتا و جزایر لانگرهانس را به طور واضح ترمیم نماید. با استفاده از نتایج بیوشیمیایی و بافت شناسی در این تحقیق می توان نتیجه گرفت که یکی از سازوکار های اثر ایندول در پیشگیری از دیابت در موش های صحرایی، بازسازی و ترمیم جزایر لانگرهانس و به دنبال آن افزایش میزان انسولین است. در پژوهش حاضر indole در گروه دیابتی در کاهش معنی دار $p < 0.001$ قند خون نسبت به گروه شم دیابتی موثر بوده است (نمودار Marks.B) و همکارانش در سال ۲۰۰۰ گزارش دادند در رت های دیابتی شده، الگوی دریافت آب و دفع ادرار در شبانه روز تغییر می کند و این موضوع با تشنگی زیاد و دفع ادرار همراه است (۲۰). در این بررسی میزان میانگین مصرف آب و ادرار گروه دیابتی تیمار شده با indole کاهش معنا داری در سطح $p < 0.001$ نسبت به گروه شم داشت. در صورتی در گروه غیر دیابتی افزایش معناداری

دیابتی تیمار شده نیز نسبت به شم دیابتی ناچیز بود و است و افزایش سطح انسولین در گروه غیر دیابتی دیده نشده است.

نتیجه گیری

نتایج ما نشان داد که درمان با ایندول سبب بهبودی هیپرگلیسمی و مانع زوال هیستولوژیکال سلول های بتای پانکراس در رت های دیابتی شده با آلوکسان می گردد. بنابراین ایجاد نرموگلیسمی و حذف و دفع رادیکال های آزاد ممکن است مانع از آسیب پانکراس و یا ترمیم آن گردد. مشخص شده است ایندول هسته ساختار ملاتونین را تشکیل می دهد (۲۱). در ساختار ملاتونین گروه جانبی متصل شده به ایندول در موقعیت ۳ قرار دارد در حالی که در ساختار ۵-هیدروکسی ایندول، ۲- کربوکسیلیک که از مشتقات ایندول می باشد، گروه جانبی به موقعیت ۲ متصل شده است که احتمالاً می تواند دلیلی بر تفاوت تاثیر این دو ترکیب بر روی دیابت باشد (۱۵). در این رابطه مطالعات بیشتری لازم است تا اثرات مفید ترکیبات مثل ایندول و مشتقات آن در درمان بیماران دیابتی مشخص گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بوده است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و با همکاری و مساعدت آزمایشگاه علوم پایه این واحد صورت پذیرفت از تمامی کسانی که همکاری صمیمانه ای با ما داشته اند تشکر و قدردانی به عمل می آید.

در سطح ($p < 0.01$) نسبت به شم غیر دیابتی داشته است. نتایج تاییدی بر یافته های Marks است. برخی عوامل فارماکولوژیکی قادرند سلول های بتا را محافظت کرده و موجب بهبودی موقت یا دائمی دیابت شوند (۲۲) نتایج این تحقیق بیانگر این نکته است که تیمار با ایندول موجب حفاظت خون و پانکراس در برابر استرس اکسیداتیو می شود، در حالی که هیپرگلیسمی حاد و مزمن موجب القا استرس اکسیداتیو می شود. استرس اکسیداتیو در دیابت قندی همراه با کاهش قدرت اکسیدانی همراه است (۴). شواهد مختلفی از گونه ها از جمله پریمات ها وجود دارند که دلالت بر رسپتور ۳ هیستامین در تنظیم مصرف غذا و وزن بدن و اثر درمانی بالقوه ی آگونیست معکوس H_{1R} دارد. Pierson و همکارانش در سال ۲۰۰۹ گزارش دادند $5\text{-hydroxy indole carboxylic acid}$ با پتانسیل زیادی به عنوان سری جدیدی از آگونیست معکوس H_{1R} (رسپتور هیستامین ۳) مشخص شده است. این آزمایش منجر به شناسایی ترکیبات معکوس $R\text{-methyl histamine}$ که باعث افزایش مصرف آب در رت نژاد ویستار و کاهش مصرف غذایی در رژیم غذایی ناشی از چاقی در رت های با نژاد Sprague,dawley است می شود (۲۲). در این پژوهش ترکیب $\Delta HICA$ در رت های با نژاد ویستار احتمالاً به عنوان آگونیست معکوس H_{1R} عمل کرده و باعث افزایش مصرف آب در رت های گروه تجربی ۲ غیر دیابتی شده است. میزان قند خون گروه تجربی ۲ دیابتی نسبت به گروه شم دیابتی در سطح ($p < 0.01$) در طول دوره تیمار معنی دار می باشد. میانگین مقدار مصرف آب و دفع ادرار این گروه نیز نسبت به گروه شم دیابتی تغییری نداشته است. تنها مصرف آب گروه تجربی ۲ غیر دیابتی در مقایسه با گروه شم غیر دیابتی در سطح ($p < 0.01$) افزایش داشته است. Vera Stetinova و همکارانش در سال ۲۰۰۲ گزارش دادند ترکیب $3\text{-indole-carboxylic acid}$ میزان گلوکز خون را به میزان ۳٪ افزایش می دهد (۲). در گروه تجربی ۲ غیر دیابتی در هفته ی اول و دوم گلوکز خون در سطح $p < 0.01$ نسبت به شم غیر دیابتی افزایش داشته و در پایان دوره ی تیمار بدون تغییر است. سطح انسولین گروه تجربی ۲

- (1) Adeghate E, Ponery AS, Sheen R. Streptozotocin –Induced Diabetic Mellitus is Associated With Increase Pancreatic Tissue Level of Noradrenalin and Adrenalin in the Rat. *Pancreas*, 2001; 22(3):311-6.
- (2) Anzenbacher P, Bromme H, Grossmann V, Stetinova V. In Vivo and in vitro Assessment Antioxidant Activity of Melatonin and Related Indole Derivates. *Gen Physiol Biophys*, 2002; 21(2): 153-162
- (3) Baik HH, Cho YH, Chung JH, Ha E, Kang I, Yim SV, Yoon KS. Melatonin Stimulates Glucose Transport Via Insulin Receptor Substrate-1/Phosphatidylinositol 3-kinase Pathway in c2c12 Murine Skeletal Muscle Cells. *J Pineal Res*, 2006; 41(1):67-72.
- (4) Bannier E, Calamard P, Dari J, Garcia I, Orgiazzi J, Revol A, Rivere J, Seghrouchi I. Oxidative stress Parameter in Type1, type2 and Insulin-Treated Type2 Diabetes Mellitus, Insulin Treatment Efficiency. *Clin Chem Acta*, 2002; 321(1-2):89-96.
- (5) Behara RS, Boini MK, Lodgala SD, Nammi S. The Juice of Fresh Leaves of *Cathranthus Roseus* Linn, Reduces Blood Glucose in Normal and Alloxan Diabetic Rats. *Bio Med Central*, 2003; 3(4): 1-4.
- (6) Brownlee M. Biochemistry and Molecular Cell Biology of Diabetic Complications. *Nature*, 2001; 414 (6865): 813-20.
- (7) Cacchi S, Fabrizi G. Synthesis and Functionalization of Indoles Through Palladium-Catalyzed Reactions. *Chem Rev*, 2011; 111 (5): 215-83.
- (8) Carpinelli AR, Cipolla-Neto J, Curi R, De oliveira-Carvalho CR, Haber EP, Picinato MC. Melatonin Inhibits Insulin Secretion and Decrease PKA Level With Interfering With Glucose Metabolism in Rat Pancreatic Islet. *J Pineal Res*, 2002; 33 (3):156-60.
- (9) Celik I, Tuluçe Y. Effect of Indole Acetic Acid and Kinetin on Lipid Peroxidation and Antioxidant Defense in Various Tissues of Rats. *Pest Biochem Physiol*, 2006; 84(1): 49-54.
- (10) Deinhofer M, Weissenböck H. Diagnosis of Diabetes Mellitus in a Bull by Means of Butyrate Infusion. *Zentralbl Veterinarmed A*, 1998; 45(5):287-92.
- (11) Fettes A, Freichel C, Gatti-Mcarthur S, Hertel J, Humyler J, Mohr P, Nakagawa T, Pierson D. 5-Hydroxy indole 2- carboxylic acid amids Novel Histamine -3-Receptor Inverse Agonist for the Treatment of Obesity. *J Med Chem*, 2009; 52(13):3855-3868.
- (12) Galisteo J, Herroiz T. Endogenous and Dietary Indoles: A class of Antioxidant and Radical Scavengers in the ABTS assay. *Free Radic Res*, 2004; 38(3):323-31.
- (13) Gano GP, Gorud AA, Kshirsagar AD, Tolele SG. Protective Effect of Indole-3- Carbinol Analogue and its VanodiUm Complex in Hyperaglesia in STZ Induced Diabetic Mice. *IJPBR*, 2011; 2(1):26-32.
- (14) Gordon W.G. Recent Developments in Indole Ring Synthesis—Methodology and Applications. *J Chem Soc Perkin Trans*, 2000; 1 (7): 10451075.
- (15) Hadley M E, Heward C B. Structure-Activity Relationships of Melatonin and Related Indoleamines. *Life Sci*, 1975; 17 (7): 1167-1177.
- (16) Humphrey GR, Kuethe JT. Practical Methodologies for the Synthesis of Indoles. *Chem Rev*, 2006; 106 (7): 2875-911.
- (17) Korkmaz A, Oter S, Reiter RJ, Topal T, Tan DX. Hyperglycemia Related Pathophysiologic Mechanism and Potential Beneficial Action of Melatonin. *Mini Rev Med Chem*, 2008; 8(11):1144-53.
- (18) kuttan R, Subu AMC. Medical Plants and its Relation Antidiabetic Activity of Ship with their Antioxidant Property. *J Ethuopharmacal*, 2002; 81(2):155-60.
- (19) Lindwall HG, VanOrder RB. "Indole". *Chem Rev*, 1942; 30(1): 69–96.
- (20) Marks JB, Rashkin P. cardiovascular risk in diabetes. *J Diab Complic*, 2000; 14(2):108-15.
- (21) Mor M, Spadoni G, Tarzia G. Structure-Affinity Relationship of Indole-Based Melatonin Analogs. *Biol Signals Recept*, 1999; 8(1-2):15-23.
- (22) Oranje WA, Roundas C, Swennen GN, Wolffenbuttel BH. Lipid Proxidation in Type2 Diabetes: Relationship with Macrovascular Disease. *Neth J Med*, 1999; 53(2):61-68.
- (23) Sivakami S, Suji G. Approaches to the Treatment of Diabetes Mellitus an Overview. *Cell Mol Biol*, 2003; 49(4):635-9.
- (24) Szkudelski T. The Mechanisms of Alloxan And Streptozotocin Action. *Physiol Res*, 2001; 50 (6): 537-46.