

بررسی اثر عصاره الکلی دانه شبليله بر فعالیت آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر

اکرم عیدی^{۱*}، مریم عیدی^۲، موسی سوخته^۳

- ۱- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
- ۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی
- ۳- کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
- * آدرس مکاتبه: تهران، بالاتر از میدان پونک، به طرف حصارک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
صندوق پستی: ۴۴۶ - ۱۶۵۳۵، تلفن: ۰۲۱-۴۴۸۱۷۱۷۰، نما بر: ۰۲۱-۴۴۸۱۷۱۷۵
پست الکترونیک: akram_eidi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۴/۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۴/۳/۱

چکیده

مقدمه: دانه گیاه شبليله (*Trigonella foenum-graecum* L.) غالباً به عنوان ادویه و چاشنی غذایی استفاده می‌شود. همچنین در طب سنتی اثراتی از جمله اثرات مدر، ضد نفخ، ضد اسهال و ضد رماتیسم به آن نسبت داده شده است.

هدف: در این مطالعه اثر عصاره الکلی دانه گیاه شبليله بر سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در حیوانات سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت و اثر عصاره گیاه با داروی گلی بن کلامید مقایسه گردید.

روش بررسی: در تحقیق حاضر، تیمار خوراکی عصاره الکلی دانه گیاه شبليله با دوزهای ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز بر حیوانات سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین صورت گرفت. سپس سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز سرم در آنها ارزیابی گردید. مقایسه‌ای نیز بین تاثیر عصاره الکلی دانه گیاه شبليله و داروی متداول گلی بن کلامید صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج تحقیق حاضر گویای آن است که میزان آنزیم‌های فوق به دلیل آسیب بافت کبدی به صورت معنی‌داری در سرم حیوانات دیابتی افزایش می‌یابد و تیمار عصاره الکلی دانه گیاه شبليله در حیوانات دیابتی موجب کاهش معنی‌داری در سطح آنزیم‌های فوق در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی می‌گردد، ولی بر حیوانات سالم تاثیر معنی‌داری ندارد.

نتیجه‌گیری: این گیاه به دلیل مهار آسیب کبدی ناشی از دیابت، به عنوان داروی ضد دیابتی پیشنهاد می‌گردد. هر چند جزئیات مکانیسم عمل این گیاه ناشناخته است و مطالعات بیوشیمیابی و فارماکولوژیکی بسیاری جهت تایید اثرات آن مورد نیاز است.

گل واژگان: دانه شبليله، دیابت، موش صحرایی

مقدمه

در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها به دنبال می‌آورد [۶]. با توجه به ضایعات متعدد و بعضًا کشنده‌ای که بیماری در افراد دیابتی به جای می‌گذارد، لزوم بررسی راه‌های درمان، تخفیف و پیشگیری از آن بیشتر احساس می‌شود. در حال حاضر، با توجه به مشکلات تهیه و تزریق انسولین و داروهای پایین آورنده قند خون و همچنین با در نظر گرفتن عوارض جانبی داروهای صناعی توجه محققین به سوی استفاده از داروهای گیاهی جلب گردیده است. استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری دیابت در طب سنتی قدمتی دیرینه دارد ولی تجربیات و نتایج علمی اندکی در مجتمع علمی ارایه گردیده است [۷]. در این تحقیق جهت مشخص نمودن اثر دانه گیاه شنبیله بر بهبود آسیب کبدی ناشی از دیابت، عصاره الکلی دانه گیاه به موش‌های صحرایی نر سالم و دیابتی شده توسط استریتوزوتوسین تیمار و میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز^۱ و آسپارتات آمینو ترانسفراز^۲ سرم در حیوانات سنجش گردیده. آنگاه مقایسه‌ای نیز بین تاثیر عصاره الکلی دانه گیاه شنبیله و داروی متداول گلی بن کلامید بر فعالیت آنزیم‌های فوق صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه

دانه گیاه شنبیله از منطقه کرج جمع‌آوری شد و شناسایی تاگزونومیکی آن در هریاریوم دانشگاه تربیت معلم تهران انجام گرفت. دانه‌های گیاه در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شده و توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری گردید.

آماده‌سازی عصاره

پودر دانه گیاه شنبیله با اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل در دستگاه سوکسله^۳ قرار داده شد و عصاره به دست آمده توسط دستگاه روتاری^۴ خشک گردید.

^۱ Alanine aminotransferase/ALT

^۲ Aspartate aminotransferase/AST

^۳ Suxhlet

^۴ Rotary



شنبلیله^۱ گیاهی علفی از خانواده بقولات^۲ دارای دانه‌های قهوه‌ای یا قرمز مایل به زرد تا خاکستری به طول ۳-۵ می‌باشد [۱]. از دانه این گیاه به عنوان ادویه و از برگ آن به عنوان سبزی استفاده می‌نمایند. دانه گیاه شنبیله دارای اثرات مختلفی از جمله کاهش دهنده چربی سرم، ضد دیابت، مدر، ضد تنفس، ضد اسهال و ضد رماتیسم است [۲،۳،۴]. شنبیله در سطوح وسیعی در کشورهای مراکش، اتیوبی، تونس، مصر، الجزایر و هند کشت می‌شود. شنبیله در نواحی مختلف ایران پرورش می‌یابد و از سبزی‌های مفیدی است که در تهیه اغذیه مورد استفاده قرار می‌گیرد. به علاوه به حالت خودرو در نواحی مختلف آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان و نواحی مرکزی ایران (سمنان و دامغان) نیز می‌روید. تاکنون ۷۰ گونه متعلق به جنس *Trigonella* L. شناسایی شده است که شامل گیاهان یک تا چند ساله می‌باشند. ارتفاع شنبیله متفاوت است و به شرایط اقلیمی محلی رویش گیاه بستگی داشته و بین ۴۰ تا ۶۰ سانتی‌متر می‌باشد. ساقه گیاه دارای انشعاب‌های متعددی است. برگ‌ها سه‌تایی و طول آن یک تا چهار سانتی‌متر است. دمبرگ به طول یک تا سه سانتی‌متر و کم و بیش کرک‌دار است. گل‌های شنبیله دو‌جنSSI سفید، زرد و به ندرت بنفش‌رنگ هستند. میوه شنبیله غلاف‌دار به طول ۱۰ تا ۱۲ سانتی‌متر و پهنه‌ای آن ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر است. تعدادی دانه در داخل میوه قرار دارد. طول دانه به چهار تا پنج میلی‌متر می‌رسد. دانه‌ها بسیار محکم و در طول آن یک شیار کم و بیش عمیق وجود دارد. دانه شنبیله در تاریکی جوانه می‌زند و تا یک الی دو سال از قوه رویشی مناسبی برخوردار است [۱].

دیابت بیماری مزمن، مادام‌العمر و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون ریز است که در بیشتر موارد به علت کاهش ترشح انسولین توسط سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده ایجاد می‌گردد [۵]. این بیماری با تغییرات مشخصی در متابولیسم درون سلولی در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد، کلیه و عروق خونی همراه است و همچنین اختلال وسیعی را

^۱ *Trigonella foenum-graecum* L.

^۲ Papilionaceae

حیوانات آزمایشگاهی

جمع‌آوری نمونه‌های خون و روش‌های بیوشیمیابی پس از گذشت ۱۴ روز، حیوانات با اتر بیهوش شده و نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بالا فاصله سانتریفوژ شده و سرم آنها به دست آمد. میزان آنزیم‌های ALT و AST سرم اندازه‌گیری گردید [۱۰].

آنالیز آماری داده‌ها

اثر تیمار خوراکی عصاره و داروی گلی‌بن‌کلامید در تمامی تجربیات با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه^۱ و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. نتایج به صورت Mean \pm S.E.M. ارایه شدند. ملاک استنتاج آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان آنزیم ALT سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم افزایش می‌یابد ($p < 0.01$). داروی گلی‌بن‌کلامید ($p < 0.01$) و عصاره الکلی دانه گیاه شبیله با دوز 0.25 و 0.5 گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم ALT سرم در موش‌های دیابتی شده ایجاد می‌نمایند ($p < 0.05$) (نمودار شماره ۱). همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان آنزیم AST سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم افزایش می‌یابد ($p < 0.01$). عصاره الکلی دانه گیاه شبیله با دوز 0.25 و 0.5 گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم AST سرم در موش‌های دیابتی شده ایجاد می‌نمایند. به طوری که عصاره گیاهی به صورت معنی‌داری موثرتر از داروی گلی‌بن‌کلامید در کاهش میزان آنزیم AST موش‌های دیابتی شده عمل می‌نماید (نمودار شماره ۲).

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار^۱ با محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم از انتستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط مناسب آزمایشگاهی با درجه حرارت کنترل شده 2 ± 23 درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی هوا بین ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند.

آماده سازی حیوانات دیابتی

(Pharmacia & Upjohn, USA) استرپتپیزوتوسین (streptozotocin) بلا فاصله پیش از انجام آزمایش در سالین استریل حل شده به طور درون صفاقی در دوز 60 mg/kg تزریق گردید. عالیم دیابت شامل کاهش وزن، پرنوشی و پرادراری پس از گذشت ۵-۷ روز آشکار گردید. جهت اطمینان بیشتر، میزان قند خون حیوانات از طریق خون‌گیری از سینوس رترواریتال از گوشه داخلی چشم اندازه‌گیری شد که افزایش قند خون به میزان بیش از 300 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نشان‌دهنده دیابتی شدن حیوانات بود [۸,۹].

نحوه تیمار

عصاره گیاهی در دوزهای مختلف، داروی گلی‌بن‌کلامید و آب مقطّر به صورت خوراکی از طریق لوله روزانه تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها 1 ml/L و مدت زمان تیمار ۱۴ روز بود. حیوانات به 9 گروه تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه 6 سر بود.

گروه ۱: حیوانات سالم که با آب مقطّر تیمار شدند.

گروه‌های $2, 3, 4$: حیوانات سالم که عصاره گیاهی را با دوزهای $0.1, 0.25$ و 0.5 گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۵: حیوانات دیابتی که با آب مقطّر تیمار شدند.

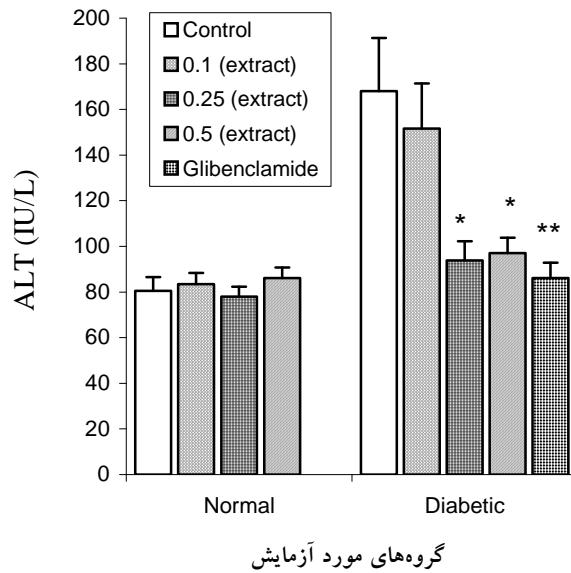
گروه‌های $6, 7, 8$: حیوانات دیابتی که عصاره گیاهی را با دوزهای $0.25, 0.5$ و 0.75 گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۹: حیوانات دیابتی که داروی گلی‌بن‌کلامید را با دوز 600 میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

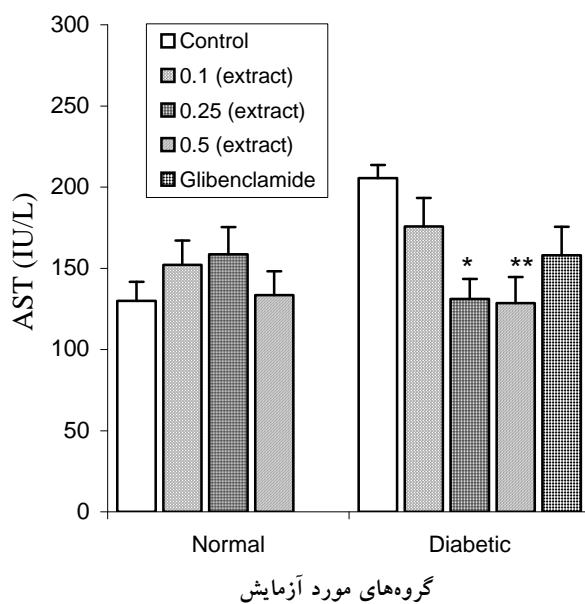
¹ One-way ANOVA

¹ Wistar





نمودار شماره ۱- اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی دانه گیاه شبیله (غله‌های ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر میزان آنزیم ALT سرم در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوبسین. اثر داروی گلی‌بن کلامید نیز در موش‌های دیابتی شده بررسی شده است. حیوانات کنترل آب مفطر دریافت نموده‌اند. هر ستون Mean \pm S.E.M را نشان می‌دهد. $p < 0.05$ و $p < 0.01$ اختلاف میزان آنزیم ALT را از گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۲- اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی دانه گیاه شبیله (غله‌های ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر میزان آنزیم AST سرم در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوبسین. اثر داروی گلی‌بن کلامید نیز در موش‌های دیابتی شده بررسی شده است. حیوانات کنترل آب مفطر دریافت نموده‌اند. هر ستون Mean \pm S.E.M را نشان می‌دهد. $p < 0.05$ و $p < 0.01$ اختلاف میزان آنزیم AST را از گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد.

بحث

مبليان به بيماري ديا بت افزايش مي يابد.

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که میزان آنزیم های AST و ALT سرم به صورت معنی داری در موش های دیابتی شده در مقایسه با رت های سالم افزایش می یابد. بافت کبد در حیوانات دیابتی نکروزه می گردد و احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم ها در نتیجه نشت آنها از سیتوزول کبدی به داخل جریان خون می باشد و همچنین عصاره الكلی دانه گیاه شبليله موجب کاهش معنی داری در میزان فعالیت آنزیم های فوق می گردد. کاهش چنین فعالیت هایی احتمالاً در نتیجه مهار آسیب کبدی القا شده توسط استرپتوزوتوسین می باشد [۱۴، ۱۵]. احتمالاً عصاره الكلی دانه گیاه شبليله با کاهش آسیب در سلول های کبدی و همچنین با کاهش سطح لیپیدهای کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب باعث کاهش سطح آنزیم های ALT و AST در پلاسما می گردد.

بر طبق نتایج تحقیق حاضر عصاره الكلی دانه شبليله به صورت موثری در کاهش آسیب کبدی ناشی از دیابت عمل می نماید، لذا می توان عصاره این گیاه را به عنوان داروی ضد دیابتی در نظر گرفت. هر چند تحقیق های بیوشیمیابی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید جهت استفاده از آن مد نظر قرار داد.

دیابت احتمالاً سریع ترین بیماری متابولیکی در حال رشد در دنیا می باشد و مطالعات بر روی این بیماری جهت یافتن روش های درمانی مناسب تر نیز رو به افزایش است [۱۱]. طب گیاهی در سرتاسر دنیا برای محدوده ای از افراد مبتلا به دیابت کاربرد دارد. مطالعه گیاهان دارویی کلید طبیعی را برای باز کردن مشکلات درمانی این بیماری ارایه می نماید.

کبد یکی از اندام هایی است که در بیماری دیابت دچار آسیب می گردد. آنزیم های ALT و AST به مقدار فراوان در کبد وجود دارند و با آسیب سلول های کبدی میزان این آنزیم ها در خون بالا می رود. این آنزیم ها در ارزیابی اختلالات کبدی مورد استفاده قرار می گیرند. افزایش در فعالیت آنزیم های فوق منعکس کننده آسیب کبد است. اختلالات التهابی سلول های کبدی منجر به افزایش حاد در میزان ترانس آمینازها می گردد [۱۲، ۱۳]. آزادسازی آنزیم به داخل جریان خون در هنگام آسیب یا مرگ سلولی اتفاق می افتد. هر بیماری که باعث افزایش در فعالیت متابولیکی بافت های مذکور گردد، موجب افزایش سطح آنزیم های فوق در خون می شود. میزان آنها در خون همچنین به علت آسیب سلول های عضلانی و کبدی در

منابع

1. معطر فریبرز، شمس اردکانی محمد رضا. راهنمای گیاه درمانی. چاپ اول. فرهنگستان علوم پزشکی ایران. ۱۳۷۸، صفحه ۸۷.
2. Khosla P, Gupta DD and Nagpal RK. Effect of *Trigonella foenum graceum* (fenugreek) on serum lipids in normal and diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 1995; 27: 89-93.
3. Prasanna M. Hypolipidemic effect of Fenugreek: A clinical study. *Indian Journal of Pharmacology*. 2000; 32: 34-36.
4. Chaudhari RD. Herbal drug industry: a practical approach to industrial pharmacognosy. Eastern Publishers. New Dehli. 1996.
5. American Diabetes Association. Clinical practice recommendation. *Diabetes Care* 1997; 20 (Suppl. 1): S1-S70.
6. Williams G and Pickup JC. Handbook of Diabetes. 2nd ed. Blackwell Science. 2000, pp: 48-60.
7. Gray AM and Flatt PR. Nature's own pharmacy: the diabetes perspective. *Proc. Nutr. Soc.* 1997; 56: 507-517.
8. Babu PS and Srinivasan K. Renal lesions in streptozotocin-induced diabetic rats maintained on onion and capsaicin containing diets. *J. Nutr. Biochem.* 1999; 10: 477 - 483.
9. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Homayounfar H and Hosseini M. Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular



- reactivity of streptozotocin-diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 85: 139 - 144.
- 10.** Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-books Verlagsgesellschaft. 1998, pp: 55.
- 11.** Baily CJ and Flatt PR. Antidiabetic drugs, new developments. *Indian Biotechnology.* 1986; 6: 139-142.
- 12.** Foreston WC, Tedesco FJ, Starnes EC, Shaw CT. Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 1985; 76: 502 - 505.
- 13.** Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G and Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand. J. Gastroenterol.* 1986; 21: 109-113.
- 14.** Navarro CM, Montilla PM, Martin A, Jimenez J and Utrilla PM. Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of Rosmarinus. *Plant Med.* 1993; 59: 312-314.
- 15.** Mansour HA, Newairy A, Yousef MI and Shewita SA. Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats. *Toxicology.* 2002; 170: 221-228.