



## اثر عصاره اتانلی برگ تره کوهی (*Allium ampeloprasum* L. subsp. *iranicum*) بر فعالیت آنزیم‌های کبدی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی سالم و دیابتی

مریم عیدی\*

دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی

پونه شاه محمدی

کارشناس ارشد بیوشیمی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

سولماز خلجی

دانشجوی کارشناسی زیست عمومی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و گروه زیست‌شناسی، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی

محسن سعادت‌مند

دانشجوی کارشناسی زیست عمومی، گروه زیست‌شناسی، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی

محل انجام پژوهش: گروه زیست‌شناسی، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۸/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۱۲

### چکیده

در پژوهش حاضر، اثر عصاره اتانلی برگ تره کوهی (*Allium ampeloprasum* L. subsp. *iranicum*) بر سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرم موش‌های کوچک آزمایشگاهی سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت. حیوانات توسط تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۱۷۵ mg/kg, i.p.) دیابتی شدند. عصاره اتانلی گیاه در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۶ روز به روش درون صفاقی تیمار شدند. نمونه‌های خون از قلب حیوانات بعد از ۱۶ روز جمع‌آوری گردید. گروه‌های کنترل سالم و دیابتی، توسط سالیسین به عنوان حلال عصاره‌ها تیمار شدند. سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرم توسط کیت اندازه‌گیری شدند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان آنزیم‌های فوق به دلیل آسیب بافت کبدی به صورت معنی‌داری در سرم حیوانات دیابتی افزایش می‌یابد و تیمار عصاره اتانلی برگ تره کوهی در حیوانات دیابتی، موجب کاهش معنی‌داری در سطح آنزیم‌های فوق در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی می‌گردد، ولی بر حیوانات سالم، تاثیر معنی‌داری ندارد. در نتیجه، این گیاه به دلیل مهار آسیب کبدی ناشی از دیابت، به عنوان داروی ضد دیابتی پیشنهاد می‌گردد. هرچند جزییات مکانیسم عمل این گیاه ناشناخته است و مطالعات بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری جهت تایید اثرات آن مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: برگ تره کوهی، آنزیم‌های کبدی، بیماری دیابت، موش آزمایشگاهی

**مقدمه**

دیابت قندی، گروهی از بیماری‌های متابولیکی است که توسط هیپرگلیسمیا شناخته می‌شود. با توجه به اثرات جانبی استفاده از انسولین و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی، علاقه و توجه این دسته از بیماران به استفاده از محصولات طبیعی واجد فعالیت ضد دیابتی روز به روز بیشتر می‌شود (۳-۱). تحقیقات فراوانی نشان داده‌اند که بیش از ۴۰۰ گونه گیاهی دارای فعالیت هیپوگلیسمیک وجود دارند و هم‌اکنون آزمایشگاه‌های متعددی مشغول جداسازی ترکیبات هیپوگلیسمیک خوراکی گیاهی هستند (۴-۸).

جنس *Allium* در ایران ۷۵ گونه پیازدار خودروی دارد که در سرتاسر ایران پراکنده‌اند. بعضی از آن‌ها علف هرز مزارع بوده ولی اکثراً در مناطق کوهستانی می‌رویند (۹). اثرات ضد دیابتی برخی از گونه‌های جنس *Allium* مشخص شده است. گیاه تره کوهی اثرات مشابه با سیر دارد، ولی اثرات آن ملایم‌تر است. گیاه تره کوهی دارای خواص ضد آسم، آنتی‌سپتیک، دیورز، گشادکننده عروق خونی، اکسپکتورانت، تونیک و محرک است (۱۰). ولی اثر این گیاه بر سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرم در حیوانات دیابتی تاکنون گزارش نشده است.

در این پژوهش برای مشخص نمودن اثر برگ گیاه تره کوهی بر بهبود آسیب کبدی ناشی از دیابت، عصاره اتانلی برگ گیاه به موش‌های کوچک آزمایشگاهی، تیمار و میزان آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (*Alanine aminotransferase, ALT*) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (*Aspartate aminotransferase, AST*)، سرم در حیوانات سالم و دیابتی سنجش گردید.

**مواد و روش‌ها****ماده گیاهی**

برگ گیاه تره کوهی (*Allium ampeloprasum L. ssp. iranicum*) در بهار ۱۳۸۶ از منطقه امام‌زاده هاشم جاده ابعلی جمع‌آوری شد. پس از تمیز کردن، گیاه در سایه و در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس برگ‌های خشک شده

با آسیاب مکانیکی پودر شد و پودر خشک شده در یک کیسه نایلونی در فریزر تا زمان انجام آزمایش نگهداری گردید.

**تهیه عصاره اتانلی گیاه**

برگ‌های خشک پودر شده (حدود ۶۰ گرم) با ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانل (۸۰ درصد) در دستگاه سوکسله به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. سپس عصاره، صاف و توسط دستگاه روتاری، خشک شد.

**حیوانات**

موش‌های آزمایشگاهی ۲۵ - ۲۰ گرم در قفس‌های تمیز با درجه حرارت ۲۴ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰ - ۴۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی به آب و غذا داشتند.

**آماده‌سازی حیوانات دیابتی**

استرپتوزوتوسین (Pharmacia & Upjohn, U.S.A) لحظاتی پیش از انجام آزمایش، در سرم فیزیولوژیک استریل حل شد و به روش درون‌صفاقی (۱۷۵ mg/kg, i.p.) به موش‌های آزمایشگاهی تزریق گردید. پنج روز پس از تزریق، حیوانات با سطح گلوکز سرم بیش از ۱۸۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

**نحوه تیمار**

عصاره گیاهی در دوزهای مختلف و سرم فیزیولوژیک به صورت تزریق درون‌صفاقی به مدت ۱۶ روز تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۳ میلی‌لیتر بود. حیوانات به ۱۴ گروه تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۱۰ سر بود.

گروه ۱: حیوانات سالم که با سالیین تیمار شدند.

گروه‌های ۷ - ۲: حیوانات سالم که عصاره گیاهی را با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۸: حیوانات دیابتی که با سالیین تیمار شدند.

گروه‌های ۱۴ - ۹: حیوانات دیابتی که عصاره گیاهی را با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

صورت  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  ارائه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  تعیین شد.

### نتایج

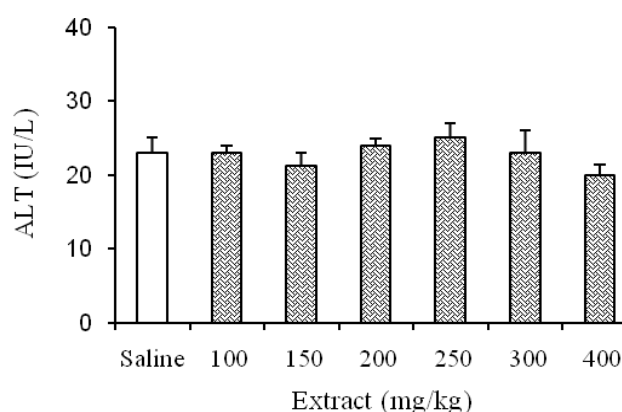
نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار عصاره اتانلی گیاه تره کوهی به مدت ۱۶ روز در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، اثر معنی‌داری بر سطح آنزیم ALT سرم موش‌های سالم ایجاد نمی‌کند (نمودار ۱).

### نمونه‌گیری خون و روش‌های بیوشیمیایی

پس از ۱۶ روز، حیوانات با اتر بیهوش شدند و نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب، جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بلافاصله سانتریفیوژ شد و سرم آن‌ها به دست آمد. میزان آنزیم‌های ALT و AST سرم، اندازه‌گیری گردید.

### آنالیز آماری

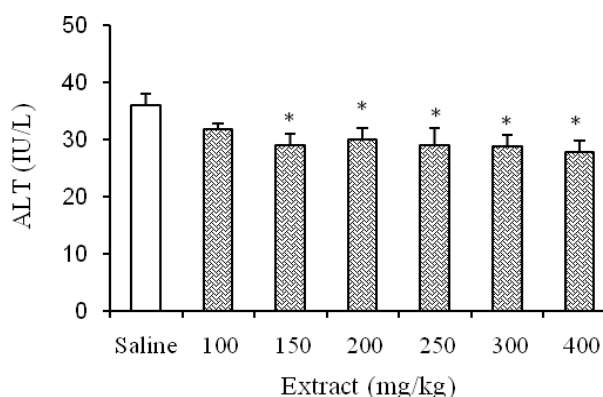
داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده‌ها به



نمودار ۱ - اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره الکلی برگ تره کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر سطح آنزیم ALT سرم در موش‌های ناشتای سالم. هر ستون  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  را برای ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل، سالیین را به‌عنوان حلال عصاره دریافت کردند.

ALT سرم در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین می‌شود ( $p < 0.01$ ) (نمودار ۲).

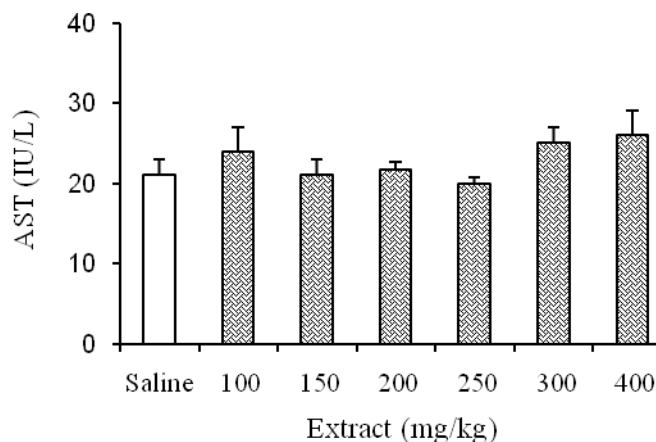
تیمار عصاره اتانلی برگ گیاه تره کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۶ روز، موجب کاهش معنی‌دار سطح آنزیم



نمودار ۲ - اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره الکلی تره کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر سطح آنزیم ALT سرم در موش‌های ناشتای دیابتی‌شده توسط استرپتوزوسین. هر ستون  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  را برای ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل دیابتی، سالیین را به‌عنوان حلال عصاره دریافت کردند.  $p < 0.05$  \* اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

میلی گرم بر کیلوگرم، موجب تغییر معنی دار سطح آنزیم AST سرم در موش های سالم نمی شود (نمودار ۳).

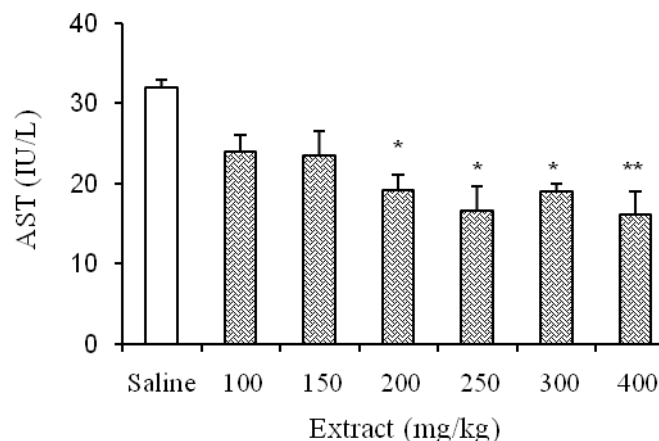
تیمار درون صفاقی عصاره اتانلی گیاه برگ تره کوهی در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰



نمودار ۳- اثر تزریق درون صفاقی عصاره الکلی برگ تره کوهی در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر سطح آنزیم AST سرم در موش های ناشتای سالم. هر ستون mean  $\pm$  S.E.M. را برای ۱۰ موش نشان می دهد. گروه کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کرده اند.

AST سرم در موش های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می شود ( $p < 0.01$ ) (نمودار ۴).

تیمار درون صفاقی عصاره اتانلی گیاه برگ تره کوهی در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی دار سطح آنزیم



نمودار ۴- اثر تزریق درون صفاقی عصاره الکلی برگ تره کوهی در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر سطح آنزیم AST سرم در موش های ناشتای دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. هر ستون mean  $\pm$  S.E.M. را برای ۱۰ موش نشان می دهد. گروه کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند.  $p < 0.05$  \*،  $p < 0.01$  \*\* اختلاف از گروه کنترل را نشان می دهند.

دیابت در آینده ارائه می دهد. استرپتوزوتوسین، یک عامل ضد سرطان و آنتی بیوتیک است که با دژنراسیون و نکروز سلول های بتای پانکراس برای ایجاد بیماری دیابت در انواعی از حیوانات استفاده می شود. کبد یکی از اندام هایی است که در بیماری دیابت دچار آسیب می شود. آنزیم های ALT و AST به مقدار فراوان

## بحث

در حال حاضر، روش های درمانی موجود برای درمان بیماری دیابت قندی غیروابسته به انسولین، از جمله اصلاح رژیم غذایی، عوامل هیپوگلیسمیک و انسولین، محدودیت های خاص خود را دارند (۱۱). مطالعه طب گیاهی، کلید طبیعی را به منظور باز کردن مشکل بیماری

حاجی زاده و آقایان حمیدرضا محمدی و مهدی رضایی که در انجام پژوهش حاضر همکاری صمیمانه‌ای داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

#### منابع:

- 1-Holman, R. R., and Turner, R. C. 1991. Oral agents and insulin in the treatment of NIDDM. In: Pickup, J., Williams, G. (Eds.). Textbook of Diabetes. Blackwell. Oxford. p: 467-9.
- 2-Prout, T. E. 1974. In: Malaisse WJ, Pirat J, (Eds.), Proceedings VIII Congress of International Diabetes Federation. *Expertal Medica*. Amsterdam. p: 162.
- 3-Kameswara Rao, B., Giri, R., Kesavulu, M. M., and Apparao, C. H. 1997. Herbal medicine: In the management of diabetes mellitus. *Manphar Vaidhya Patrika*. p: 33-5.
- 4-Mukherjee, S. K. 1981. Indigenous drugs in Diabetes mellitus. *Journal of the Diabetes Association Ind*. 21: 97-106.
- 5-Oliver-Bever, B. 1986. Oral hypoglycemic action. *Medicinal plants in Tropical West Africa*. Cambridge University Press. London. p: 245-67.
- 6-Ivorra, M. D., Paya, M., and Villar, A. 1989. Review of natural products and plants as potent antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology* 27: 243-76.
- 7-Atta-Ur, R., and Zaman, K. 1989. Medicinal plants with hypoglycemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 26: 1-55.
- 8-Rai, M. K. 1995. A review on some antidiabetic plants of India. *Ancient Science of Life* 14: 42-54.
- 9-Mozaffarian, V.A. 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names.

در کبد وجود دارند و با آسیب سلول‌های کبدی، میزان این آنزیم‌ها در خون بالا می‌رود. این آنزیم‌ها در ارزیابی اختلالات کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. افزایش در فعالیت آنزیم‌های فوق، منعکس کننده آسیب کبد است. اختلالات التهابی سلول‌های کبدی منجر به افزایش حاد میزان ترانس‌آمینازها می‌گردد (۱۳،۱۲). آزادسازی آنزیم به داخل جریان خون در هنگام آسیب یا مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. هر بیماری که فعالیت متابولیکی بافت‌های مذکور را افزایش دهد، موجب افزایش سطح آنزیم‌های فوق در خون می‌شود. میزان آن‌ها در خون نیز به علت آسیب سلول‌های عضلانی و کبدی در مبتلایان به بیماری دیابت افزایش می‌یابد.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که میزان آنزیم‌های AST و ALT سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم افزایش می‌یابد. بافت کبد در حیوانات دیابتی نکروزه می‌شود و احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌ها در نتیجه نشت آنها از سیتوزول کبدی به داخل جریان خون است. همچنین، عصاره الکلی برگ تره کوهی موجب کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های فوق می‌گردد. کاهش چنین فعالیت‌هایی احتمالاً در نتیجه مهار آسیب کبدی القا شده توسط استرپتوزوتوسین است (۱۵،۱۴). احتمالاً عصاره الکلی برگ تره کوهی با کاهش آسیب سلول‌های کبدی و همچنین با کاهش سطح لیپیدهای کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب، باعث کاهش سطح پلاسمایی آنزیم‌های AST و ALT می‌شود.

طبق نتایج پژوهش حاضر، عصاره الکلی برگ تره کوهی به صورت مؤثری در جهت کاهش آسیب کبدی ناشی از دیابت عمل می‌کند، لذا می‌توان عصاره این گیاه را به عنوان داروی ضد دیابتی در نظر گرفت. هرچند پژوهش‌های بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید برای استفاده از آن مدنظر قرار داد.

#### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از باشگاه پژوهشگران جوان واحد ورامین - پیشوا به‌واسطهٔ تامین بودجهٔ لازم برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین، از سرکار خانم‌ها مرجان عرب، انوشه سلیمانی رحیم آبادی، ندا

- 11- Chi, M. S. 1982. Effects of garlic products on lipid metabolism in cholesterol fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 171: 174-8.
- 12- Foreston, W. C., Tedesco, F. J., Starnes, E. C., and Shaw, C. T. 1985. Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *J Clin Gastroentrol* 76: 502-5.
- 13- Hulcrantz, R., Glaumann, H., Lindberg, G., and Nilson, L. H. 1986. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand J Gastroentrol* 21: 109-13.
- Farhang Moaser Publication. Tehran, p: 360.
- 10- Bown, D. 1995. *Encyclopedia of herbs and their uses.* Dorling Kindersley, London.
- 14- Navarro, C. M., Montilla P. M., Martin, A., Jimenez, J., and Utrilla, P. M. 1993. Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of *Rosmarinus*. *Plant Med* 59: 312-4.
- 15- Mansour, H. A., Mewairy A., Yousef M. I., and Shewita, S. A. 2002. Biochemcial study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats. *Toxicology* 170: 221-8.

