مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال دهم، شماره چهارم، پیاپی چهلم، بهار ۱۴۰۱ (۹۸-۸۷)

DOI: 10.30473/eab.2022.56477.1842

مقاله پژوهشی:

بررسی اثرات ضددیابتی و محافظت‌کبدی عصاره آبی گزنه در موش‌های نر ویستار دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

طاهره نیکخواه[۱]، امیر آراسته[۲*]
۱. کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۲۱ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۸)

چکیده
دیابت و بیماری‌های کبدی از مشکلات جدی و تهدیدکننده سلامتی جوامع محسوب می‌شوند. گزنه در طب سنتی ایران به عنوان یک داروی کاهنده گلوکز خون معرفی شده است. گزارشات علمی متناقضی از اثرات کاهندگی قندخون گیاه گزنه وجود دارد، ولی این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خوبی برای کاهش آسیب‌های کبدی است. پژوهش حاضر به بررسی اثر ضددیابتی و محافظت‌کبدی عصاره آبی گزنه در موش‌های نر نژاد ویستار پرداخته است. موش‌ها به پنج گروه تقسیم شده و گروه‌های آزمون برای بررسی اثرات ضددیابتی و محافظت‌کبدی به‌ترتیب برای ۱۴ و ۳۲ روز، عصاره گزنه را روزانه به‌صورت خوراکی با دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان دریافت کردند. میزان قندخون با گلوکومتر و فعالیت آنزیم‌های کبدی با کیت‌های شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شد. نتایج با استفاده از آزمون آماریStudent's T-Test و ANOVA و با استفاده از نرم‌افزارSPSS ویرایش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. قندخون در گروه‌های آزمون اول و دوم (mg/dl ۱۷۰ و ۱۲۲)، نسبت به گروه کنترل‌منفی (mg/dl ٤٤٦) کاهش معناداری نشان داد. فعالیت آنزیم‌های کبدی نیز در گروه‌های آزمون اول و دوم، نسبت به گروه کنترل‌منفی کاهش معناداری نشان داد. عصاره آبی گزنه اثرات مفیدی در مدیریت بیماری دیابت و حفظ سلامت سلول‌های کبدی در برابر ترکیبات سمی دارد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوزوتوسین، دیابت، گزنه، محافظت‌کبدی.

Investigation of Anti–diabetic and Liver Protective Effects of The Aqueous Extract of *Urtica dioica* on Streptozotocin Induced Male Wistar Mice

Tahereh Nikkhah[1], Amir Arasteh[2*]
1. M. A., Department of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
2. Assistant Professor, Department of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

(Received: Jul. 12, 2021 - Accepted: Jun. 18, 2022)

Abstract
Diabetes and liver diseases are serious problems and threaten the health of communities. Nettle has been introduced in traditional Iranian medicine as a blood glucose lowering drug. There are conflicting scientific reports about the effects of reducing the blood sugar of nettle, but this plant has good antioxidant and anti-inflammatory properties to reduce liver damage. Current study, examines the anti-diabetic and liver protective effects of the aqueous extract of *urtica dioica* in vistar male rats. The mice were divided into five groups and in order to investigation of anti-diabetic and liver protective effects, test groups obtained daily 2.5 and 5 ml/kg of the aqueous extract of *urtica dioica* orally for 14 and 32 days, respectively. Blood glucose was measured with a glucometer and liver enzyme activity was measured with ParsAzmoon kits. The results were analyzed using Student's T–Test and ANOVA using SPSS software version 21. Blood sugar levels in first and second test groups (170 and 122 mg/dl) showed a significant decrease compared to the negative control group (446 mg/dl). The activity of liver enzymes in the first and second test groups also showed a significant decrease compared to the negative control group. The aqueous extract of *urtica dioica* has beneficial effects in managing diabetes and maintaining the health of liver cells against toxic compounds.

Keywords: Diabetes, liver protection, streptozotocin, *Urtica dioica*.

* نویسنده مسئول: امیر آراسته Email: arasteh@iaurasht.ac.ir

مقدمه

دیابت شیرین یک سندرم اختلال متابولیسمی است که در اثر توارث و عوامل محیطی ایجاد شده و سبب افزایش قندخون می‌شود (Parsons *et al.*, 1992). گزنه (گزنه کبیر، گزنه دوپایه، گزنه درشت)، با نام علمی *Urtica dioica* L. گیاه علفی، چند ساله و از تیره *Urticaceae* است که در متون مختلف به عنوان یک عامل ضد دیابت معرفی شده است. این گیاه بومی اروپا، شمال آسیا، شمال شرق آفریقا و شمال آمریکا بوده و به‌صورت گسترده در مراکش می‌روید و در آن منطقه به صورت سالاد استفاده می‌شود. گزنه در کتاب‌های طب سنّتی با نام انجره کبیر یاد شده و از دوران ماقبل تاریخ مردم از خواص درمانی آن خبر داشتند و برای تغذیه از آن استفاده می‌کردند (Kavalalı *et al.*, 2003). در اوایل قرن سوم قبل از میلاد، سقراط، عصاره گزنه را به‌صورت خارجی برای درمان گزیدگی و نیش عقرب و به‌صورت خوردنی به عنوان تریاک، رفع مسمومیت‌هایی که در اثر گیاهان سمّی نظیر شوکران ایجاد می‌شد، توصیه می‌کرد (Farzami *et al.*, 2003). گزنه در طب سنتی ایران به‌عنوان یک داروی کاهنده قندخون، مدر و ضد التهاب معرفی شده است. زدن برگ‌های گزنه روی مفاصل، درمانی برای آرتریت، روماتیسم مزمن و فقدان قدرت عضلانی در نظر گرفته شده و ضماد آن برای بر طرف شدن نقرس، درد سیاتیک یا مفصلی به کار می‌رود. گزارشات متنوعی درخصوص اثرات کاهندگی گلوکز خون از گیاه گزنه وجود دارد، بنابراین مصرف آن در افراد مستعد ابتلا به دیابت، می‌تواند در کاهش شدت بیماری مؤثر باشد (Bnouham *et al.*, 2003; Golalipour & Khori, 2007).

اسید گالیک، اسید فرمیک (جوهر مورچه)، کاروتن و ویتامین A، تانن، موسیلاژ، پتاسیم، آهن، کلسیم، سیلیکون، ویتامین C از ترکیبات شیمیایی این گیاه هستند. همچنین از سرشاخه‌های این گیاه ماده قرمز رنگی به نام اورتی‌سین[1] استخراج می‌شود (Shahraki *et al.*, 2013). علاوه بر این، وجود ماده لسیتین و گلوکوزیدی با اثر قرمزکننده پوست و چند املاح معدنی، گوگرد و یک آلکالوئید نیز در گیاه گزنه تأیید شده است و برگ آن حاوی کاروتن، گزانتوفیل، لوکوآنتوسیانیدین، فلاون، فلاونول و به نسبت کمتری لوکوآنتوسیانیدین و کلروفیل می‌باشد (Francišković *et al.*, 2017). پژوهش حاضر به بررسی اثر ضددیابتی و محافظت‌کبدی عصاره آبی گزنه در موش‌های نر نژاد ویستار پرداخته است.

مواد و روش‌ها

دی فنیل پیکریل هیدرازیل[2] (DPPH) و استرپتوزوتوسین[3] از شرکت سیگما تهیه شد. خوراک مخصوص موش تولیدی خوراک دام پارس و کیت‌های تشخیص کمی گلوکز و آنزیم های کبدی از شرکت پارس آزمون تهیه شدند.

تهیه عصاره آبی گزنه

میزان ۱۰ گرم از پودر گزنه با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک ظرف ریخته شده و برای ۱۵ دقیقه جوشانیده شد. محلول جوشانده از یک پارچه توری عبور داده شده و سپس با کاغذ صافی فیلتر گردید. محلول عصاره آبی تا قبل از استفاده در ظرف تیره در دار و در یخچال نگهداری شد (Dufresne & Farnworth, 2000).

حیوانات مورد استفاده و نحوه نگه‌داری آن‌ها

حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۲۵ سر موش نر ویستار سفید (دیابتی) و ۱۰ موش‌نر سالم با وزن تقریبی ۵±۱۶۰ گرم و سن دو تا سه ماه بودند.

1.Uurticin
2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
3. Streptozotocin

حیوانات از مرکز تحقیقات وارنا و شهید میرغنی گیلان تهیه شدند و آزمایشات در همان مرکز انجام شد. آب و غذا در تمام طول آزمایش بدون هیچ محدودیتی در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت و درجه حرارت محیط ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد بوده که در طول شبانه روز ثابت نگه‌داشته می‌شد. قفس‌های نگه‌داری حیوانات از جنس پلی‌کربنات در ابعاد ۴۰×۲۵×۱۵ با سقف مشبک از جنس استیل بود که در هر کدام پنج سر موش نگه‌داری می‌شد. کف قفس‌ها با تراشه‌های چوب مفروش شد و خاک‌اره‌های موجود در کف قفس هر روز یک‌بار تعویض می‌شد. قفس‌ها در دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. حیوانات قبل از انجام آزمایش، وزن شده تا در محدودهٔ وزنی خاصی باشند. بیماری دیابت با تزریق درون صفاقی ۶۰ میلی‌گرم از استرپتوزوتوسین به‌ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان القا شد.

بررسی اثر ضددیابتی

برای بررسی اثر ضددیابتی، عصاره آبی گزنه روزانه به صورت گاواژ به حیوانات خورانیده شد و میزان قندخون در نمونه خون انتهای دم همه موش‌ها، قبل و بعد از پایان دوره دو هفته‌ای آزمایش، با دستگاه گلوکومتر بررسی و ثبت شد. موش‌ها با ماژیک‌های رنگی علامت‌گذاری شده و سپس مطابق جدول ۱، بر اساس قند خون در یکی از گروه‌ها قرار گرفتند.

گروه شاهد ۱: شامل ۵ موش سالم نر بودند که هر روز ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند.

گروه شاهد ۲: شامل ۵ موش سالم نر بودند که روزانه ۲ میلی‌لیتر عصاره آبی گزنه به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند.

گروه کنترل منفی: شامل ۵ موش دیابتی نر بودند که هر روز ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند.

گروه آزمون ۱: شامل ۵ موش دیابتی نر بودند که روزانه ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی گزنه به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند.

گروه آزمون ۲: شامل ۵ موش دیابتی نر بودند که روزانه ۵ میلی‌لیتر عصاره آبی گزنه به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند.

بررسی اثر محافظت کبدی

برای بررسی اثر محافظت کبدی، مخلوط روغن زیتون و تتراکلرید کربن به میزان ۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان با سرنگ به درون محفظه صفاق حیوان تزریق شد. عصاره آبی گزنه نیز روزانه به صورت گاواژ به حیوانات خورانیده شد. فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در سرم خون پنج گروه موش ذکر شده در جدول ۲، بعد از یک دوره ۳۲ روزه با کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری و ثبت شد.

جدول ۱. گروه‌بندی موش‌ها برای بررسی اثر ضد دیابتی

گروه	تعداد	دوره زمانی (روز)	عصاره آبی گزنه (ml/kg) از وزن بدن	زمان خونگیری
شاهد ۱	۵ موش سالم	۱۴	بدون تیمار (آب مقطر)	روز اول و پایان روز ۱۴
شاهد ۲	۵ موش سالم	۱۴	۲/۵	روز اول و پایان روز ۱۴
کنترل منفی	۵ موش دیابتی	۱۴	بدون تیمار (آب مقطر)	روز اول و پایان روز ۱۴
آزمون۱	۵ موش دیابتی	۱۴	۲/۵	روز اول و پایان روز ۱۴
آزمون۲	۵ موش دیابتی	۱۴	۵	روز اول و پایان روز ۱۴

جدول ۲. گروه‌بندی موش‌ها برای بررسی اثر محافظت کبدی

گروه	تعداد	دوره زمانی (روز)	داروی تزریقی (ml/kg) نسبت (۱:۱)	عصاره آبی گزنه (ml/kg) از وزن بدن	زمان خونگیری
شاهد ۱	۵	۳۲	روغن زیتون	–	پایان روز ۳۲
شاهد ۲	۵	۳۲	روغن زیتون	۲/۵	پایان روز ۳۲
کنترل منفی	۵	۳۲	روغن زیتون + تتراکلریدکربن	–	پایان روز ۳۲
آزمون ۱	۵	۳۲	روغن زیتون + تتراکلریدکربن	۲/۵	پایان روز ۳۲
آزمون ۲	۵	۳۲	روغن زیتون + تتراکلریدکربن	۵	پایان روز ۳۲

گروه شاهد: شامل ۵ موش نر بودند که هفته‌ای ۲ بار از روغن زیتون به میزان ۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

گروه شاهد ۲: شامل ۵ موش نر بودند که هفته‌ای ۲ بار از روغن زیتون به میزان ۱ میلی لیتر به‌ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان به صورت درون صفاقی دریافت کردند. همچنین روزانه ۲ میلی‌لیتر از عصاره آبی گزنه به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن به صورت گاواژ دریافت نمودند.

گروه کنترل ۱: شامل ۵ موش نر بودند که هفته‌ای ۲ بار از روغن زیتون و تتراکلریدکربن (به نسبت ۱:۱) به میزان ۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان به صورت درون صفاقی دریافت نمودند.

گروه آزمون ۱: شامل ۵ موش نر بودند که هفته‌ای ۲ بار از زیتون و تتراکلریدکربن (به نسبت ۱:۱) به میزان ۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاقی دریافت کردند، به‌علاوه روزانه ۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی گزنه به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن به صورت گاواژ دریافت نمودند.

گروه آزمون ۲: شامل ۵ موش نر بودند که هفته‌ای ۲ بار از زیتون و تتراکلریدکربن (به نسبت ۱:۱) به میزان ۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاقی دریافت کردند، به‌علاوه روزانه ۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی گزنه به‌ازای هر گیلوگرم از وزن بدن به صورت گاواژ دریافت نمودند.

به منظور ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALP, AST, ALT)، ۳ میلی‌لیتر از قلب خون‌گیری به‌عمل آمد. نمونه‌های سرم خون پس از قرارگرفتن به‌مدت ۲۰ دقیقه در آزمایشگاه، لخته شده و برای ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سرم جدا شده تا زمان انجام سنجش‌های آنزیمی به‌صورت منجمد نگه‌داری شد. نمونه‌های کبدی در داخل محلول فرمالین ۱۰ درصد نگه‌داری شده و از آن برای تهیه لام و رنگ آمیزی نمونه بافت استفاده شد.

شکل ۱. الف) گاواژ کردن، ب) خونگیری از دم موش و اندازه گیری قندخون با گلوکومتر، ج) تزریق درون صفاقی و د) تشریح موش و خارج‌کردن کبد (تصاویر از نویسندگان)

آنالیز آماری

نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با استفاده از آزمون آماری Student's T-Test و ANOVA بیان گردید. جهت بررسی اثر ضددیابتی و محافظتی عصاره آبی

گزنه در برابر آسیب‌های کبدی القاشده با تتراکلریدکربن در موش‌ها از آزمون‌های آنالیز واریانس بین آزمودنی، تی- تست مستقل و تی- تست زوجی استفاده شد. جهت بررسی قندخون در دو زمان مختلف از آزمون T-Test استفاده گردید و از آنجا که هر آزمودنی دو بار مورد آزمایش قرار می‌گیرد، تی- تست از نوع زوجی (تکراری) استفاده شد. در بررسی آنزیم‌های کبدی با توجه به وجود یک عامل با پنج سطح از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد و از آنجایی‌که هر آزمودنی فقط یک بار مورد آزمایش قرار گرفت، آنالیز واریانس از نوع بین آزمودنی یکطرفه بود و برای مقایسه‌های دوبه‌دو از پس‌آزمون Tukey استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی اثر ضددیابتی عصاره آبی گزنه

جهت مقایسه میزان تغییرات قندخون در موش‌های دیابتی و تیمار شده با عصاره آبی گزنه در گروه‌های مختلف و همچنین قبل و بعد از تیمار از آزمون‌های تحلیل واریانس و تی- تست استفاده شد. شایان ذکر است، در مورد داده‌ها نرمال از تحلیل واریانس بین آزمودنی یکطرفه، تی- تست مستقل و تی- تست زوجی و در مورد داده‌های غیر نرمال از معادل ناپارامتری آن، یعنی آزمون‌های کروسکال-والیس[1]، استفاده گردید. به‌همین منظور، ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف[2]، وضعیت نرمال بودن داده‌ها بررسی شد.

با توجه به نتایج مندرج در جدول ۳، از آنجا که داده‌های مربوط به قندخون قبل و بعد از تیمار در گروه‌های مختلف، نرمال بود (P-value>α=۰/۰۵)، بنابراین جهت مقایسه‌ی اثر حفاظتی عصاره آبی گزنه قبل و بعد از تیمار در موش‌های دیابتی، از آزمون تی تست زوجی استفاده شد و هچنین از آنجا که داده‌های مربوط به تغییرات قند خون در گروه‌های مختلف، نرمال بوده است (P-value>α=۰/۰۵) جهت مقایسه-ی تغییرات قندخون در گروه‌های دیابتی از تحلیل واریانس بین آزمودنی یکطرفه و برای گروه‌های کنترل از آزمون تی- تست مستقل استفاده گردید. جدول ۴ میزان قندخون قبل و بعد از ۱۴ روز دریافت عصاره آبی گزنه در گروه‌های مورد آزمایش را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از بررسی قندخون، قبل و بعد از تیمار با عصاره آبی گزنه نشان داد که میزان قندخون در گروه کنترل منفی که موش‌های دیابتی از عصاره آبی گزنه دریافت نکرده اند، افزایش زیادی داشته است. میزان قندخون پس از تمیار در گروه‌های آزمون‌های ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل منفی، کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۲).

نتایج حاصل از بررسی اثر محافظت کبدی عصاره آبی گزنه

جهت مقایسه میزان آسیب کبدی در گروه‌های مختلف از آزمون تحلیل واریانس استفاده شد. شایان ذکر است، در مورد داده‌ها نرمال از تحلیل واریانس بین آزمودنی یکطرفه و در غیر این‌صورت از معادل ناپارامتری آن یعنی آزمون کروسکال-والیس استفاده شد. به همین منظور ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف، وضعیت نرمال بودن داده‌ها بررسی گردید.

با توجه به نتایج مندرج در جدول (۵)، از آنجا که داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP در کبد آسیب دیده و تیمار شده با عصاره آبی - گزنه، نرمال بوده است (P-value>α=۰/۰۵)، جهت مقایسه‌ی اثر حفاظتی آن بر کبد از آزمون تحلیل واریانس بین آزمودنی یک‌طرفه استفاده شد.

1. Kruskal–wallis
2 Kolmogorov–smirnov

جدول ۳. بررسی نرمال بودن داده‌های مربوط به قندخون قبل و بعد از تیمار در گروه‌های مورد آزمایش

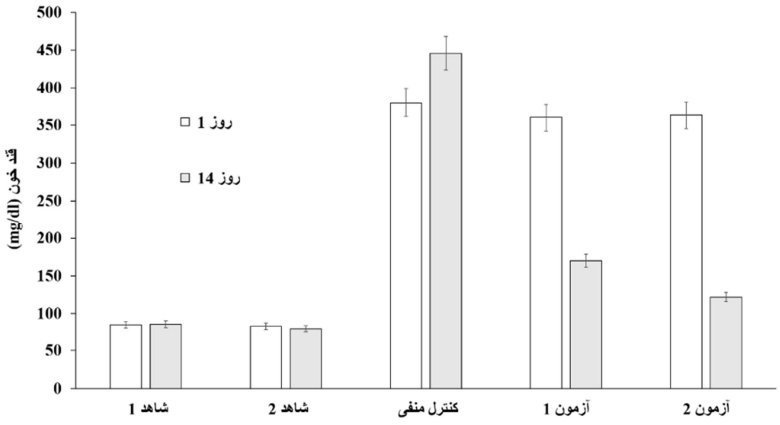
گروه‌های مورد آزمایش	قبل از تیمار		بعد از تیمار	
	P-value	نتیجه	P-value	نتیجه
شاهد ۱ (آب)	۰/۹۴۴	نرمال	۰/۷۱۳	نرمال
شاهد ۲ (عصاره آبی گزنه (۲/۵ml/kg))	۰/۹۸۸	نرمال	۰/۹۹۹	نرمال
کنترل منفی (آب)	۰/۹۷۱	نرمال	۰/۹۲۳	نرمال
آزمون ۱ (عصاره آبی گزنه (۲/۵ml/kg))	۰/۸۷۰	نرمال	۰/۸۱۲	نرمال
آزمون ۲ (عصاره آبی گزنه (۵ml/kg))	۰/۹۹۸	نرمال	۰/۸۵۵	نرمال

جدول ٤. میزان قندخون قبل و بعد از ۱۴ روز دریافت عصاره آبی گزنه در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌های مورد آزمایش	قند خون (mg/dl)		P-value**
	روز صفر *	روز ۱۴ *	
شاهد ۱ (آب)	۸۵/۴۰±۳۱۷۲۳	۸۶/۶۰±۱/۹۱۳	عدم وجود اختلاف معنادار
شاهد ۲ (عصاره آبی گزنه (۲/۵ml/kg))	۸۳/۲۰±۳/۰۷۲	۸۰/۶۰±۳/۴۸۷	۰/۰۵<۰/۰۳۳P=
کنترل منفی (آب)	۳۸۰/۶۰±۴۲/۳۸۳	۴۴۶/۴۰±۴۳/۵۱۳	۰/۰۱<۰/۰۰۲P=
آزمون ۱ (عصاره آبی گزنه (۲/۵ml/kg))	۳۶۰/۸۰±۴۸/۷۵۵	۱۷۰/۰۰±۲۸/۰۳۶	۰/۰۱<۰/۰۰۱P=
آزمون ۲ (عصاره آبی گزنه (۵ml/kg))	۳۶۳/۰۰±۵۶/۲۷۷	۱۲۲/۲۰±۱۷/۴۳۳	۰/۰۱<۰/۰۰۴P=

* میانگین ± خطای استاندارد میانگین (Mean±SEM)

** مقدار P (حاصل از تی- تست زوجی) در مقایسه با قبل از دریافت عصاره گزنه



شکل ۲. میزان قندخون قبل و بعد از دو هفته دریافت عصاره آبی گزنه در گروه‌های مورد آزمایش

جدول ۵. بررسی نرمال بودن سطوح فعالیت سرمی ALT، AST و ALP در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌های مورد آزمایش	P-value (ALT)	نتیجه	P-value (AST)	نتیجه	P-value (ALP)	نتیجه
شاهد ۱ (روغن زیتون)	۱	نرمال	۱	نرمال	۰/۹۷۹	نرمال
شاهد ۲ (روغن زیتون+ عصاره آبی گزنه (۲/۵ml/kg))	۱	نرمال	۰/۹۹۹	نرمال	۰/۹۹۹	نرمال
کنترل منفی (تتراکلریدکربن+روغن زیتون)	۱	نرمال	۱	نرمال	۱	نرمال
آزمون ۱ (تتراکلریدکربن+روغن زیتون+ عصاره آبی گزنه (۲/۵ml/kg))	۰/۹۹۶	نرمال	۱	نرمال	۰/۹۷۲	نرمال
آزمون ۲ (تتراکلریدکربن+روغن زیتون+ عصاره آبی گزنه (۵ml/kg))	۰/۹۹۹	نرمال	۱	نرمال	۱	نرمال

همانطور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود، سطح سرمی فعالیت آنزیم‌های کبدی در هر سه آنزیم کبدی، در گروه‌های آزمون‌های ۱ و ۲ کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی نشان داد. نتایج به‌طور مقایسه‌ای در شکل ۳ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از بافت‌شناسی کبد

بررسی بافت‌شناسی کبد در این مطالعه نشان داد که بیش‌ترین میزان نکروز در گروه کنترل منفی (تیمارشده با CCl_4) و در نواحی مرکز لوبولی و اطراف سیاهرگ مرکزی رخ داده و کم‌ترین میزان التهاب در گروه‌های آزمون ۱ و ۲ (تیمار شده با CCl_4 و عصاره آبی گزنه) مشاهده شد. نتایج نشان داد که دریافت هم‌زمان جوشانده گزنه و CCl_4 می‌تواند به کاهش قابل توجه نکروز کبدی منجر شود.

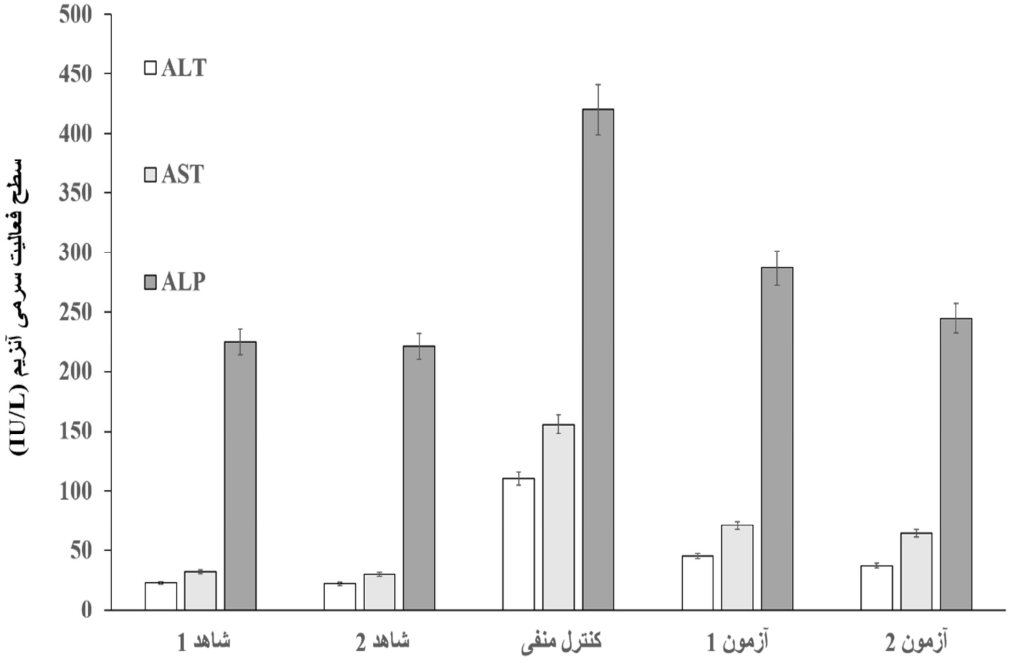
جدول ٦. اثرات حفاظتی عصاره آبی گزنه بر سطح سرمی فعالیت آنزیم‌های کبدی

گروه‌های مورد آزمایش	سطح سرمی فعالیت آنزیم‌های کبدی					
	(ALT) Mean±SEM*	P-value **	(AST) Mean±SEM*	P-value **	(ALP) Mean±SEM*	P-value **
شاهد ۱ (روغن زیتون)	۲۳±۰/۷۰۷	-	۳۲±۱/۰۰۰	-	۲۲۵±۲/۰۲۵	-
شاهد ۲ (روغن زیتون+ عصاره آبی گزنه (۵/۲ml/kg))	۲۲±۱/۰۰۰	NS***	۳۰±۱/۳۰۴	NS***	۲۲۱±۱/۸۴۴	NS***
کنترل منفی (تتراکلریدکربن+روغن زیتون)	۱۱۰±۱/۴۱۴	P < ۰/۰۰۱	۱۵۶±۱/۷۰۳	P < ۰/۰۰۱	۴۲۰±۲/۰۵۵	P < ۰/۰۰۱
آزمون ۱ (تتراکلریدکربن+روغن زیتون+ عصاره آبی گزنه (۵/۲ml/kg))	۴۵±۱/۱۴۰	P < ۰/۰۰۱	۷۱±۱/۰۰۰	P < ۰/۰۰۱	۲۸۷±۲/۴۷۰	P < ۰/۰۰۱
آزمون ۲ (تتراکلریدکربن+روغن زیتون+ عصاره آبی گزنه (۵ml/kg))	۳۷±۱/۳۰۴	P < ۰/۰۰۱	۶۴±۱/۴۱۴	P < ۰/۰۰۱	۲۴۵±۲/۱۲۱	P < ۰/۰۰۱

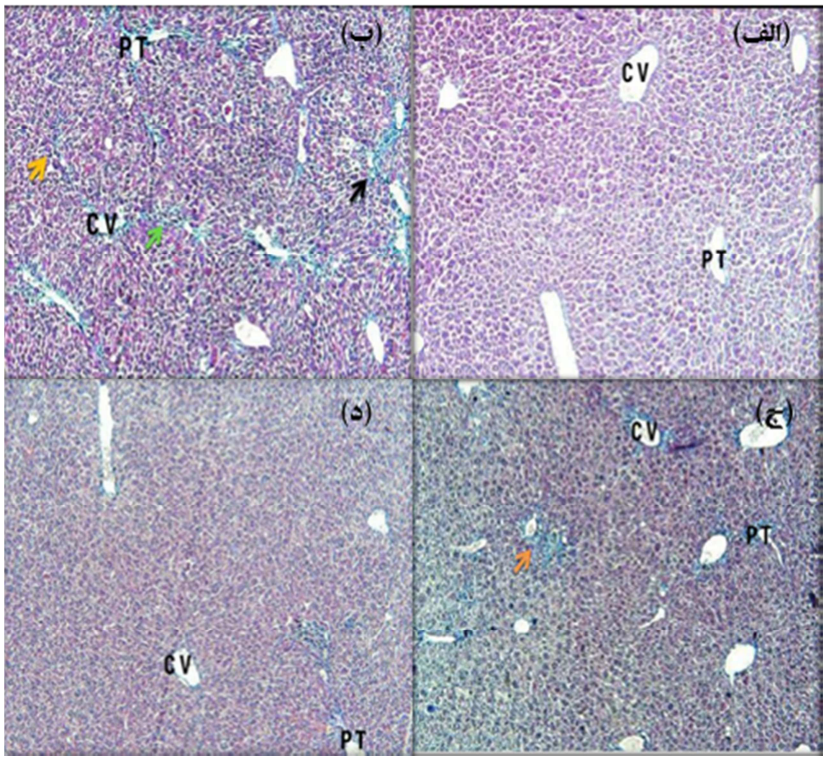
* میانگین ± خطای استاندارد میانگین (Mean±SEM)

** حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه‌ی بین آزمودنی

*** عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد



شکل ۳. اثرات حفاظتی عصاره آبی گزنه بر سطح سرمی آنزیم‌های کبدی



شکل ٤. تأثیر جوشانده گزنه بر تغییرات بافتی کبد در حیوانات مدل آسیب کبدی ناشی از تترا کلرید کربن. (الف): فتو میکروگراف از بافت کبد طبیعی در گروه کنترل، (ب): فتومیکروگراف از بافت کبد در گروه کنترل منفی، نکروز حاد هپاتوسیتی (پیکان سیاه) و تجمع سلول‌های التهابی (پیکان قرمز) در نواحی اطراف سیاهرگ مرکزی (CV) و فضای پورت (PA) مشهود است، (ج) و (د): فتومیکروگراف از بافت کبد در گروه های آزمون ۱ و ۲ که به ترتیب با ۲/۵ و ۵ میلی لیتر از عصاره آبی گزنه تیمار شدند، محدوده نکروز و تجمع سلول‌های التهابی در این گروه‌ها به‌طور چشم‌گیری کاهش یافته است. (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ۱۰۰).

بحث و نتیجه‌گیری

عصاره آبی گزنه موجب کاهش قندخون می‌شود

زنجیره تنفسی یکی از محل‌های مهم تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول است (Ide *et al*., 1999). اختلال در میتوکندری و کاهش بیوسنتز ATP یکی از عوامل مهم ایجاد بیماری دیابت است (Santos *et al*., 2001; Jain *et al*., 2003). در افراد دیابتی و مسن، گلیکوزیلاسیون محصولات مشتق از گلوکز افزایش می‌یابد. تحقیقات نشان می‌دهد که القای دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین سبب افزایش معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، فاکتورهای کلیوی (اوره، اسیداوریک، کراتی‌نین) و آنزیم‌های عمل‌کرد کبدی مثل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) و آسپارتات ترانس‌آمیناز (AST) می‌شود و سطح سرمی انسولین به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. استرپتوزوتوسین یک آنالوگ N–استیل گلوکز آمین است که برای القاء دیابت نوع I به‌طور تجربی استفاده می‌شود. این ترکیب موجب افزایش فعالیت NADH دهیدروژناز و کاهش فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در زنجیره تنفسی میتوکندریایی شده و از این طریق موجب نشت الکترون از غشای داخلی میتوکندری و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد (Raza *et al*., 2004).

Shahraki *et al*. (2013) با مطالعه بر موش‌های رت دیابتی دریافتند که تجویز عصاره گزنه به‌مدت یک ماه موجب کاهش FBS سرم، LDL، کلسترول و تری‌گلیسرید می‌گردد (Shahraki *et al*., 2013). همچنین Ahangarpour *et al*. (2012) اثر عصاره هیدروالکی گزنه را بر کاهش گلوکز سرم، انسولین و

لپتین و LDL بررسی کردند. موشها علاوه بر دریافت فروکتوز ۱۰ درصد به‌مدت هشت هفته، یک تزریق روزانه از عصاره هیدروالکی گزنه با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg داشتند. در این مطالعه کاهش معنی‌دار گلوکز سرم و لیپتین و LDL مشاهده شد (Ahangarpour *et al*., 2012). در مطالعه انسانی Namazi *et al*. (2011)، عصاره گزنه به ۵۰ بیمار دیابتی نوع II داده شد و افزایش معنی‌دار TAC (قابلیت کلی آنتی‌اکسیدان) و افزایش فعالیت سوپر اکسید دسیموتاز (SOD) در افراد مشاهده شد (Namazi *et al*., 2011). Morshed *et al*. (2011) به بررسی اثرات گزنه بر کاهش قند خون، کلسترون، تری گلسیرین و سطح CPR پرداختند که مشاهدات نشان داد که اثرات ضد التهابی گزنه موجب تولید سلول های بتا پانکراس شده و سطح انسولین افزایش یافته و اثرات کاهشی بر قند خون دارد و همچنین میزان کلسترول تری گلسیرین و سطح CPR کاهش یافته و وزن بدن نیز در مقایسه با گروه سالم و دیابتی کاهش می‌یابد (Morshed *et al*., 2011).

Bnouham *et al*. (2003) از عصاره آبی گزنه برای درمان موش‌های دیابتی استفاده کردند که افزایش سطح انسولین و کاهش سطح گلوکز مشاهده شد، ولی گزنه اثر هیپوگلیسمی در موش‌های صحرایی دیابتی ناشی از آلوکسان نشان نداد (Bnouham *et al*., 2003). نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز خوراکی عصاره آبی گزنه (۵ml/kg و ۲/۵) به‌مدت ۱۴ روز، سبب کاهش معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز در گروه‌های آزمون اول و دوم (۱۷۰ mg/dl و ۱۲۲)، نسبت به گروه کنترل‌منفی (۴۴۶ mg/dl) می‌گردد.

عصاره آبی گزنه برای سلول‌های کبدی اثر محافظتی دارد

کبد در متابولیسم، هضم، سم‌زدایی و حذف مواد از بدن، نقش حیاتی و مرکزی دارد (Abdel-Salam *et al*., 2010; Rhoades & Bell, 2012) و حیوانات با آسیب‌های کبدی ناشی از تتراکلریدکربن به‌عنوان یک مدل مناسب برای مطالعه اثرات حفاظت‌کننده کبدی داروها استفاده می‌شوند (Clawson, 1989; Batakov, 2001; Balasundram *et al*., 2006). تتراکلریدکربن یک اکسیدکننده و سم کبدی قوی است که با تولید رادیکال‌های آزاد و فعال تری‌کلرومتیل و تری‌کلروپراکسیل منجر به پراکسیداسیون اسیدهای چرب در غشای سلولی و در نهایت استرس اکسیداتیو می‌گردد (Amaral *et al*., 2004; Soni *et al*., 2008; Tipoe *et al*., 2010). در این شرایط، تعادل کلسیم در سلول‌ها نیز مختل می‌شود که هر دو عامل مذکور باعث مرگ سلولی می‌شوند. با آسیب غشاء پلاسمای سلول‌های کبدی، ترانس آمینازها که شاخص‌ترین آنزیم‌های کبدی هستند از سیتوزول وارد جریان خون شده و غلظت آن‌ها در خون بالا می‌رود (Cos *et al*., 2002; Balasundram *et al*., 2006). این ترکیب با سیستم اکسیدکننده میکروزومی وابسته به سیتوکروم P_{450} متابولیزه می‌شود. آنتی اکسیدان‌ها قادرند در مقادیرکم، غشاهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان‌ها حفظ کنند (Özbek *et al*., 2004; Dkhil *et al*., 2011). Kandis *et al*. (2010) به ارزیابی اثرات گیاه گزنه بر آسیب مجدد اگزمای کبدی پرداختند. در این آزمایش عصاره گزنه به‌صورت درون صفاقی به موش‌ها داده شد. مشخص شد که سطح فعالیت سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز، سرولوپلاسمین، کاتالاز، پاراکسوناز و آریل استراز در گروه تیمار شده با گزنه به‌طور معنی‌داری کاهش دارد. مطالعات بافت شناسی هم نشان از کاهش آسیب بافت کبد در گروه تیمار در مقایسه با گروه‌های دیگر داشت (Kandis *et al*., 2010).

در این مطالعه از تتراکلریدکربن به‌عنوان عامل ایجاد هپاتوتوکسیک و از عصاره آبی گزنه که محتوی آنتی‌اکسیدان است به‌عنوان دارو در نقش

محافظت‌کننده استفاده شد. همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود، تزریق تتراکلریدکربن موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آمینو ترانسفراز کبدی در گروه کنترل منفی نسبت به گروه‌های شاهد شده است که بیانگر تخریب هپاتوسیت‌ها و آزادشدن این آنزیم‌ها از سیتوزول به درون پلاسماست. اما در گروه‌های آزمون تجربی ۱ و ۲ که عصاره آبی گزنه را به ترتیب به میزان ۲/۵ ml/kg و ۵ دریافت نمودند، فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافت. این کاهش به موازات افزایش دوز مصرف دارو بیشتر نمایان شد و در مقایسه با گروه کنترل منفی، تفاوت معنی‌داری را نشان داد که مبین نقش محافظتی عصاره آبی گزنه بر سلول‌های کبدی است. بررسی بافت شناسی کبدی نیز در این مطالعه نشان داد که بیش‌ترین میزان نکروز در گروه‌های تیمار شده با CCl_4 در نواحی مرکز لوبولی و اطراف سیاهرگ مرکزی رخ داده است، زیرا سلول‌های این نواحی دارای سیتوکروم P_{450} بیش‌تری در شبکه آندوپلاسمی خود هستند. هم‌چنین بررسی‌های بافت‌شناسی کبد حیوانات، گویای کاهش نکروز و التهاب در حیوانات تیمارشده با جوشانده گزنه، پس از دریافت CCl_4 است. نتایج این بررسی‌ها ثابت نمود که دریافت همزمان جوشانده گزنه و CCl_4 می‌تواند به کاهش قابل توجه نکروز و جلوگیری از رسوب کلاژن و فیبروزه شدن کبد منجر شده و موجب حفظ و یا بازسازی داربست رتیکولار کبدی شود.

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره آبی گزنه می‌تواند به‌طور معنی‌داری موجب کاهش میزان قندخون در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین گردد. همچنین عصاره آبی گزنه موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی (AST، ALT و ALP) در پلاسما می‌گردد. به نظر می‌رسد که اثربخشی آن بر سمیّت ایجاد شده از تتراکلریدکربن، بیشتر مربوط به وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی، مهار سیتوکروم P_{450} و جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد باشد. البته پی‌بردن به عامل این اثرات، مطالعات بیوشیمیایی و فارموکولوژی بیشتری می‌طلبد. همه این اثرات، گیاه گزنه را به یک عامل مؤثر و جوشانده آن را به‌عنوان یک نوشیدنی کاربردی در مدیریت بیماری دیابت معرفی می‌کند.

تشکر و قدردانی

از تمام همکارانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Abdel-Salam, O. M.; Sleem, A. A.; Shaffie, N. M. (2010). Effect of Viscum album on acute hepatic damage caused by carbon tetrachloride in rats. Turkish Journal of Medical Sciences; 40(3): 421-426.

Ahangarpour, A.; Mohammadian, M.; Dianat, M. (2012). Antidiabetic effect of hydroalcholic Urtica dioica leaf extract in male rats with fructose-induced insulin resistance. Iranian journal of medical sciences; 37(3): 181.

Amaral, J. S.; Seabra, R. M.; Andrade, P. B.; Valentao, P.; Pereira, J. A.; Ferreres, F. (2004). Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. Food chemistry; 88(3): 373-379.

Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry; 99(1): 191-203.

Batakov, E. (2001). Effect of Silybum marianum oil and legalon on lipid peroxidation and liver antioxidant systems in rats intoxicated with carbon tetrachloride. Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiia; 64(4): 53-55.

Bnouham, M.; Merhfour, F.-Z.; Ziyyat, A.; Mekhfi, H.; Aziz, M.; Legssyer, A. (2003). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of Urtica dioica. Fitoterapia; 74(7-8): 677-681.

Clawson, G. A. (1989). Mechanisms of carbon tetrachloride hepatotoxicity. Pathology and immunopathology Research; 8(2): 104-112.

Cos, P.; Rajan, P.; Vedernikova, I.; Calomme, M.; Pieters, L.; Vlietinck, A. J.; Augustyns, K.; Haemers, A.; Berghe, D. V. (2002). In vitro antioxidant profile of phenolic acid derivatives. Free radical research; 36(6): 711-716.

Dkhil, M. A.; Moniem, A. E. A.; Al-Quraishy, S.; Saleh, R. A. (2011). Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. Journal of Medicinal Plants Research; 5(9): 1589-1593.

Dufresne, C.; Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. Food research international; 33(6): 409-421.

Farzami, B.; Ahmadvand, D.; Vardasbi, S.; Majin, F.; Khaghani, S. (2003). Induction of insulin secretion by a component of Urtica dioica leave extract in perifused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. Journal of ethnopharmacology; 89(1): 47-53.

Francišković, M.; Gonzalez-Pérez, R.; Orčić, D.; Sánchez de Medina, F.; Martínez-Augustin, O.; Svirčev, E.; Simin, N.; Mimica-Dukić, N. (2017). Chemical Composition and Immuno-Modulatory Effects of *Urtica dioica* L. (Stinging Nettle) Extracts. Phytotherapy Research; 31(8): 1183-1191.

Golalipour, M. J.; Khori, V. (2007). The protective activity of Urtica dioica leaves on blood glucose concentration and beta-cells in streptozotocin-diabetic rats. Pak J Biol Sci; 10(8): 1200-1204.

Ide, T.; Tsutsui, H.; Kinugawa, S.; Utsumi, H.; Kang, D.; Hattori, N.; Uchida, K.; Arimura, K.-i.; Egashira, K.; Takeshita, A. (1999). Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. Circulation research; 85(4): 357-363.

Jain, S. K.; Kannan, K.; Lim, G.; Matthews-Greer, J.; McVie, R.; Bocchini, J. A. (2003). Elevated blood interleukin-6 levels in hyperketonemic type 1 diabetic patients and secretion by acetoacetate-treated cultured U937 monocytes. Diabetes Care; 26(7): 2139-2143.

Kandis, H.; Karapolat, S.; Yildirim, U.; Saritas, A.; Gezer, S.; Memisogullari, R. (2010). Effects of Urtica dioica on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Clinics; 65(12): 1357-1361.

Kavalalı, G.; Tuncel, H.; Göksel, S.; Hatemi, H. (2003). Hypoglycemic activity of Urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology; 84(2-3): 241-245.

Morshed, M.; Alam, J.; Das, M.; Haque, A.; Ali, L.; Rokeya, B. (2011). Antidiabetic and anti-inflammatory activity of Utica dioica leaves on stz induced type 1 diabetic model rats. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research; 2(5): 1182.

Namazi, N.; Esfanjani, A. T.; Asghari, M.; Bahrami, A. (2011). Effect of Hydroalcholic Nettle (Urtica dioica) Extract on. J. Med. Sci; 11(3): 138-144.

Özbek, H.; Ugras, S.; Bayram, I.; Uygan, I.; Erdogan, E.; Öztürk, A.; Huyut, Z. (2004). Hepatoprotective effect of Foeniculum vulgare essential oil: A carbon-tetrachloride induced liver fibrosis model in rats. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences; 31(1): 9-17.

Parsons, J. A.; Brelje, T. C.; Sorenson, R. L. (1992). Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: increased islet cell proliferation and insulin secretion correlates with the onset of placental lactogen secretion. Endocrinology; 130(3): 1459-1466.

Raza, H.; Prabu, S. K.; Robin, M.-A.; Avadhani, N. G. (2004). Elevated mitochondrial cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase A4-4 in streptozotocin-induced diabetic rats: tissue-specific variations and roles in oxidative stress. Diabetes;53(1):185-194.

Rhoades, R. A.; Bell, D. R. (2012). Medical phisiology: Principles for clinical medicine, Lippincott Williams & Wilkins.

Santos, M. S.; Santos, D. L.; Palmeira, C. M.; Seiça, R.; Moreno, A. J.; Oliveira, C. R. (2001). Brain and liver mitochondria isolated from diabeticGoto-Kakizaki rats show different susceptibility to induced oxidative stress. Diabetes/metabolism research and reviews; 17(3): 223-230.

Shahraki, M. R.; Mirshekari, H.; Sahraki, A. R.; Shafighi, E. (2013). Effect of urtica dioica decoction on Serum glucose and lipid profile in stereptozotocin induced diabetic male rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences; 15(11).

Shahraki, M. R.; Mirshekari, H.; Sahraki, A. R.; Shafighi, E. (2013). Effect of urtica dioica decoction on Serum glucose and lipid profile in stereptozotocin induced diabetic male rats. Zahedan Journal of Medical Research; 15(11): 15-18.

Soni, B.; Visavadiya, N. P.; Madamwar, D. (2008). Ameliorative action of cyanobacterial phycoerythrin on CCl4-induced toxicity in rats. Toxicology; 248(1): 59-65.

Tipoe, G. L.; Leung, T. M.; Liong, E. C.; Lau, T. Y. H.; Fung, M. L.; Nanji, A. A. (2010). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces liver inflammation, oxidative stress and fibrosis in carbon tetrachloride (CCl4)-induced liver injury in mice. Toxicology; 273(1-3): 45-52.