

اثر هیپوگلیسمیک عصاره اتانلی برگ تره کوهی (Allium ampeloprasum L. subsp. iranicum) در موش‌های کوچک آزمایشگاهی سالم و دیابتی

سولماز خلจی^۱، مریم عیدی^{۲*}، اکرم عیدی^۳، پونه شاه‌محمدی^۴، مرجان عرب^۵

۱. کارشناس زیست عمومی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین
۲. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین
۳. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۴. کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین
۵. مربی سیستماتیک گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین

مکان انجام تحقیق: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین

مسئول مکاتبات: دکتر مریم عیدی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، صندوق پستی: ۱۶۵۳۵-۶۱۷، پست الکترونیکی: eidi@iauvaramin.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۲/۹

چکیده

در پژوهش حاضر، اثر عصاره اتانلی برگ تره کوهی (Allium ampeloprasum L. subsp. iranicum) بر وزن حیوان، کبد و کلیه، سطح گلوکز و انسولین سرم موش‌های کوچک آزمایشگاهی سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت. حیوانات توسط تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین (175 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 بهروش درون‌صفاقی تیمار شدند. نمونه‌های خون از قلب حیوانات بعد از ۱۶ روز جمع‌آوری گردید. گروه‌های کنترل سالم و دیابتی، توسط سالین به عنوان حلال عصاره‌ها تیمار شدند. سطح گلوکز، انسولین سرم توسط کیت اندازه‌گیری شدند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره اتانلی برگ تره کوهی تاثیری بر وزن حیوان، کبد و کلیه موش‌های تیمار شده، ندارد. از طرف دیگر، عصاره اتانلی برگ گیاه تره کوهی موجب کاهش گلوکز سرم و افزایش سطح انسولین سرم در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می‌گردد. ترکیب شیمیایی ماده قطبی مؤثر در عصاره اتانلی تره کوهی هنوز شناخته نشده است. داده‌های تحقیق حاضر دلالت بر وجود اثرات هیپوگلیسمیک گیاه تره کوهی است. هرچند جزئیات مکانیسم عمل این گیاه ناشناخته است و مطالعات بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری جهت تایید اثرات آن مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: Allium ampeloprasum L., برگ تره کوهی، هیپوگلیسمیا، بیماری دیابت، موش آزمایشگاهی

عوارض جانبی بسیاری مانند بروز اختلالات کبدی و کلیوی، اغمای هیپوگلیسمیک و عوارض معدی-رودهای را به دنبال دارند و به علاوه در طی دوران بارداری قابل استفاده نیستند (۴). بنابراین، امروزه در جهان پزشکی گرایشی از نو به سوی بهره‌برداری از منابع طبیعی، بهویژه گیاهان دارویی پدید آمده است.

مقدمه

بیماری قند اختلال اندوکرینی متداولی است که بیش از یک صد میلیون نفر در جهان از آن رنج می‌برند (۳). تیمارهای معمول در درمان دیابت، عوامل پایین‌آورنده قند خون و تزریق انسولین می‌باشند. عوامل هیپوگلیسمی خوراکی سنتتیک

تهییه 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 شده و توسط دستگاه روتاری، خشک شد.

حیوانات

موس‌های آزمایشگاهی ۲۵-۲۰۰ گرم در قفس‌های تمیز با دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل 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) بلافاصله پیش از انجام آزمایش در سرم فیزیولوژیک استریل حل شده و بهروش درون‌صفاقی (۱۷۵ mg/kg, i.p.) به موس‌های آزمایشگاهی تزریق شد. ۵ 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 سالین، به صورت تزریق درون‌صفاقی به مدت ۱۶ روز تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۳ میلی لیتر بود. حیوانات به ۱۴ گروه تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۱۰ سر بود.

گروه ۱: حیوانات سالم که با سالین تیمار شدند. گروه‌های ۷، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲: حیوانات سالم که عصاره گیاهی را با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. گروه ۸: حیوانات دیابتی که با آب مقطر تیمار شدند. گروه‌های ۹، ۱۱، ۱۰، ۱۴، ۱۳، ۱۲، ۱۱: حیوانات دیابتی که عصاره گیاهی را با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

ریشه‌های چنین اندیشه‌ای را می‌توان در تنوع و پراکنش وسیع گیاهان، تنوع ترکیبات شیمیایی مؤثره، سهولت کاربرد بیشتر این ترکیبات در مقایسه با ترکیبات صناعی، مانوس بودن بشر با طبیعت از سالیان دور، کارآیی طب سنتی و هزاران برتری دیگر جستجو نمود. بسیاری از داروها به طور مستقیم و یا غیرمستقیم از گیاهان بدست می‌آیند. امروزه بیش از ۸۰ گیاه جهت کنترل بیماری قند استفاده می‌شود، ولی تنها تعداد اندکی از آنها مورد مطالعه قرار گرفته اند (۵). از جمله این گیاهان می‌توان تره کوهی را نام برد. جنس *Allium* در ایران ۷۵ گونه پیازدار خودروی دارد که در سرتاسر ایران پراکنده‌اند. بعضی از آنها علف هرز مزارع بوده و اکثر آنها در مناطق کوهستانی می‌رویند (۱). اثرات ضد دیابتی برخی از گونه‌های جنس *Allium* نشان داده شده است (۲، ۶، ۷). گیاه تره کوهی دارای اثرات مشابه با سیر می‌باشد، ولی اثرات این گیاه ملایم‌تر از سیر است. گیاه تره کوهی دارای خواص ضدآسم، آنتی‌سپتیک، دیورز، گشادکننده عروق خونی، اکسپکتورانت، تونیک و محرك است (۸). ولی اثر هیپوگلیسمیک گیاه تره کوهی تاکنون گزارش نشده است. در این تحقیق برای مشخص نمودن اثر هیپوگلیسمیک برگ گیاه تره کوهی، عصاره اتانلی برگ گیاه به موس‌های کوچک آزمایشگاهی تیمار و میزان گلوکز و انسولین سرم در حیوانات سالم و دیابتی سنجش گردید.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی

برگ گیاه تره کوهی (*Allium amperoplasum L. ssp. Iranicum*) در بهار ۱۳۸۶ از منطقه امامزاده هاشم جاده آبلی جمع‌آوری شد. پس از تمیز کردن، گیاه در سایه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس، برگ‌های خشک شده با آسیاب مکانیکی پودر شد. پودر خشک شده در یک کیسه نایلونی در فریزر تا زمان انجام آزمایش نگهداری گردید.

نتایج

نتایج تحقیق 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 تاثیری بر وزن موش‌های دیابتی و سالم تیمار شده در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی و سالم ندارد (نمودار ۱).

نتایج تحقیق 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 تاثیری بر وزن کلیه موش‌های دیابتی و سالم تیمار شده در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی و سالم ندارد (نمودار ۲).

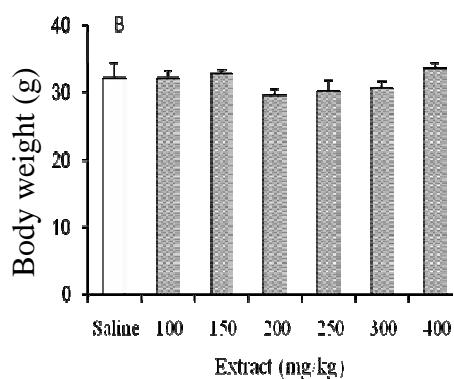
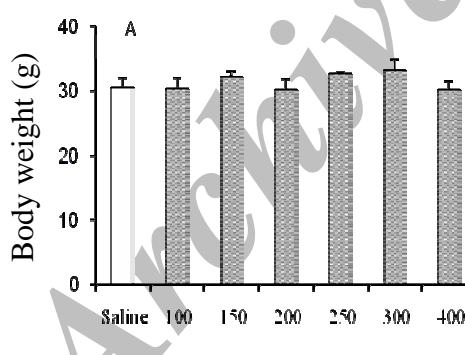
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره اتانلی گیاه تره کوهی به مدت ۱۶ روز در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تاثیری بر وزن کبد موش‌های دیابتی و سالم تیمار شده در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی و سالم ندارد (نمودار ۳).

نمونه‌گیری خون و روش‌های بیوشیمیابی

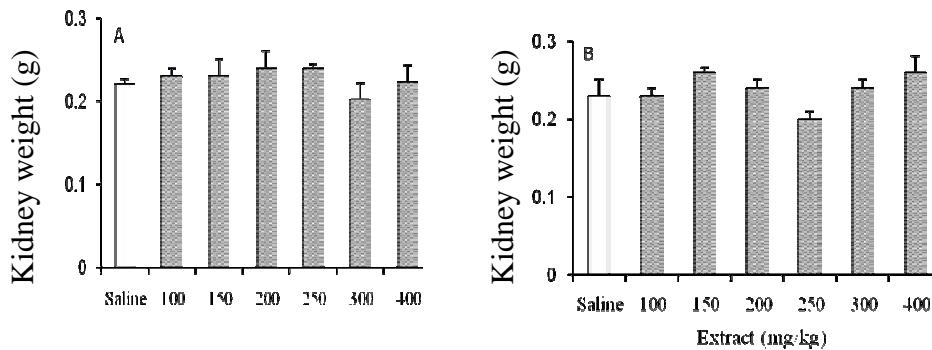
پس از ۱۶ روز، ابتدا حیوانات وزن شده و سپس توسط اتر بیهوش شدند. کلیه و کبد آنها جدا شده و توزین شدند. نمونه خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خون بلا فاصله سانتریفیوژ شده و سرم آنها به دست آمد. میزان گلوکز سرم به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (پارس آزمون، ایران) تعیین شد. سطح انسولین سرم به روش رادیوایمونوواسی و توسط کیت (Diasorin, Italy) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

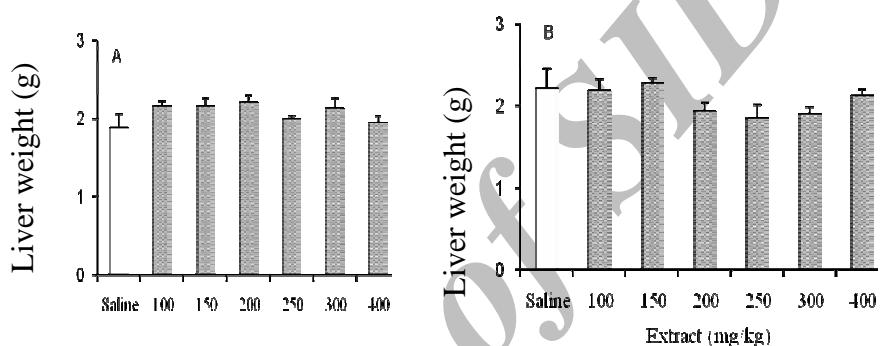
داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$ ارائه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تعیین شد.



نمودار ۱ - اثر تزریق درونصفاقی عصاره الکای برگ تره کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌های سالم (A) و دیابتی (B). هر ستون $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$. هر ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه‌های کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند.



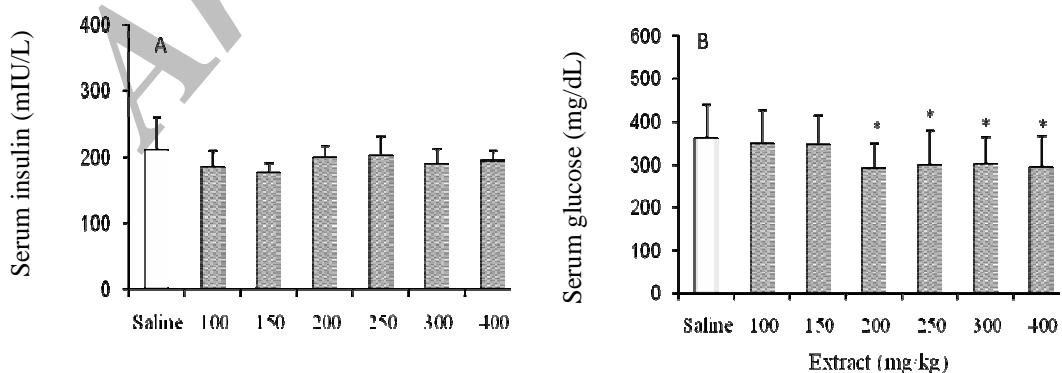
نمودار ۲ - اثر تزریق درونصفاقی عصاره الکلی برگ ترہ کوہی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن کلیه موش‌های سالم (A) و دیابتی (B). هر ستون mean \pm S.E.M. را برای ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه‌های کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند.



نمودار ۳ - اثر تزریق درونصفاقی عصاره الکلی برگ ترہ کوہی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن کبد موش‌های سالم (A) و دیابتی (B). هر ستون mean \pm S.E.M. را برای ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه‌های کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند.

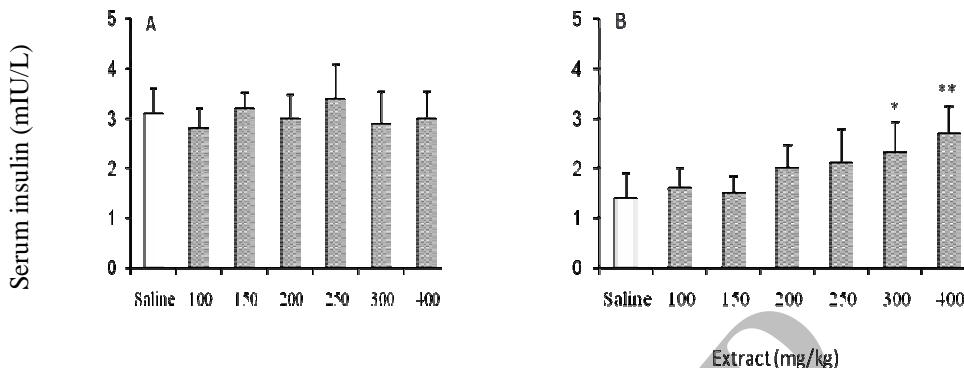
کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی‌دار گلوکز سرم در موش‌های دیابتی در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی می‌شود (نمودار ۴).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره اتانلی گیاه ترہ کوہی به مدت ۱۶ روز در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر



نمودار ۴ - اثر تزریق درونصفاقی عصاره الکلی برگ ترہ کوہی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر سطح گلوکز سرم موش‌های سالم (A) و دیابتی (B). هر ستون mean \pm S.E.M. را برای ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه‌های کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند. * اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار سطح انسولین سرم در موش‌های دیابتی در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی می‌گردد (نمودار ۵).



نمودار ۵- اثر تزریق درون‌ساقی عصاره الکلی برگ تره کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر سطح انسولین سرم موش‌های سالم (A) و دیابتی (B). هر ستون ۱۰ موش نشان می‌دهد. گروه‌های کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند. $p < 0.05$ * اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

بحث

تنها تحقیقات اندکی در مورد اثر هیپو گلیسمیک برگ تره خوراکی (*Allium porrum*) انجام شده است (۲).

مطالعات نشان داده‌اند که گیاهانی که اثرات هیپو گلیسمیک دارند، حاوی ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و اسید کوئینویک می‌باشند (۱۲). این مطلب به خوبی اثبات شده که بعضی از ساپونین‌ها دارای فعالیت هیپو گلیسمیک می‌باشند که این عمل احتمالاً به واسطه مهار گلوکونثوزنز یا گلیکوژنولیز است (۱۳، ۱۴). بنابراین، حضور این ترکیبات احتمالاً فعالیت هیپو گلیسمیک این گیاهان را توضیح می‌دهد. علاوه بر این، اثر هیپو گلیسمیک این گیاهان احتمالاً به سبب افزایش سطح انسولین سرم است (۱۵) و نیز موجب افزایش متابولیسم محیطی گلوکز می‌گردد (۱۶).

بر طبق نتایج تحقیق حاضر و با توجه به کاربرد تغذیه‌ای برگ تره کوهی، می‌توان این گیاه را به عنوان یک عامل ضد دیابتی در نظر گرفت. هرچند تحقیقاتی بیوشیمیابی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید برای استفاده از آن مدنظر قرار داد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره انانلی گیاه تره کوهی به مدت ۱۶ روز در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر

در حال حاضر، روش‌های درمانی موجود برای درمان بیماری دیابت قندی غیروابسته به انسولین، از جمله اصلاح رژیم غذایی، عوامل هیپو گلیسمیک و انسولین، محدودیت‌های خاص خودشان را دارند (۹). مطالعه طب گیاهی، کلید طبیعی را به منظور باز کردن مشکل بیماری دیابت در آینده ارائه می‌دهد. بسیاری از محصولات گیاهی از جمله مواد معدنی و فلزات برای درمان دیابت قندی توصیه شده‌اند (۱۰). روش‌های درمانی در دسترس برای دیابت قندی غیروابسته به انسولین مثل تغییر رژیم غذایی، ترکیبات هیپو گلیسمیک خوراکی و انسولین دارای محدودیت‌های مخصوص خودشان هستند (۱۱). لذا، اخیراً استفاده از گیاهان برای درمان دیابت قندی متداول شده است.

بر طبق نتایج تحقیق حاضر، عصاره الکلی برگ تره کوهی به صورت مؤثر موجب کاهش گلوکز سرم در موش‌های دیابتی می‌شود. از طرف دیگر، نتایج تحقیق نشان داد که گیاه تره کوهی با افزایش ترشح انسولین از پانکراس موجب کاهش گلوکز می‌گردد. اثرات ضد دیابتی برحی از گونه‌های جنس *Allium* نشان داده شده است (۷، ۶، ۲). تاکنون اثرات هیپو گلیسمیک گیاه تره کوهی گزارش نشده و

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از باشگاه پژوهشگران واحد ورامین – پیشوای واسطه تامین بودجه لازم برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

آزمایشگاهی نر نژاد NMARI سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. فصلنامه گیاهان دارویی. ج ۶، شماره ۲۴، صفحه ۱۳-۸.

3. A. D. A., 1997. Clinical practice recommendations screening for diabetes. *Diabetes Care* 20: 922-24.
4. Larner, I., 1958. Insulin and oral hypoglycemic drugs Glucagon. In: Gliman, A. G., Goodman, L.S., Rall, T.W., Murad, F.(Eds), The pharmacological Basis of Therapeutics, 7th ed. Macmillman , New York, P.P.,1490-1526.
5. Grover, J. K., Yadav, S., Vats, V., 2002. Medicinal plants of India with anti-diabetes potential. *Journal of Ethnopharmacology* 81: 81-100.
6. Eidi A., Eidi, M., Esmaeili, E., 2006. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 13: 624–629.
7. Augusti, K. T., 1996. Therapeutic values of onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*). *Indian J. Exp. Biol.* 34, 634–640.
8. Bown, D., 1995. Encyclopaedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London.
9. Chi, M. S., 1982. Effects of garlic products on lipid metabolism in cholesterol fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 171: 174-178.
10. Chattpadhyay, R. R., 1999. A comparative evaluation of some blood sugar lowing agents of plant origin. *Journal of Ethnopharmacology* 67: 367-72.
11. Vats, V., Grover, J. K., Rathi, S. S., 2002. Evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Strigonella foenum-graecum* Linn, *Ocimum sanctum* Linn and *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 79: 95-100.
12. Mansour, H. A., Mewairy, A., Yousef, M. I., Shewita, S. A., 2002. Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats. *Toxicology* 170: 221-228.
13. Knipschild, J. K., Ter-Riet, G., 1989. Garlic, onions and cardiovascular risk factors. A review of the evidence from human experiments. Emphasis on commercially available preparations. *Br J Clin Pharmacol* 28: 535–544.
14. Chi, M.S., Koh, E.T., Stewart, T.J., 1982. Effect of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. *J Nutr* 112: 241–248.
15. Merzouk, H., Madani, S., Chabane, D., 2000. Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin. Sci.* 98, 21–30.
16. Gebhardt, R., Beck, H., 1996. Differential inhibitory effects of garlic-derived organosulfur compounds on cholesterol biosynthesis in primary rat hepatocyte cultures. *Lipids* 1269–1276.