فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵ (٤)، ٥٦٢ – ٥٧١
زمستان ۱۳۹۰

فیزیولوژی و فارماکولوژی

بررسی اثرات هیپرگلیسمی و تجویز عصاره گیاه چرخه *Launaea acanthodes* بر اختلالات عملکردی کبد در موش صحرایی

میترا جلالی[۱]، مرتضی بهنام رسولی[۲*]، مریم تهرانی پور[۱]، نرگس غیور[۱]، جینا خیاط زاده[۱]، حمید جنتی[۳]
۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
۳. تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد

دریافت: ۸ خرداد ۹۰ پذیرش: ۳۰ مهر ۹۰

چکیده

مقدمه: عملکرد کبد، بعنوان اندامی وابسته به انسولین، شدیداً تحت تاثیر دیابت قرار می گیرد. در مطالعه حاضر اثرات تجویز عصاره اتانولی گیاه چرخه بر اختلالات عملکردی و تغییرات احتمالی بافتی کبد در شرایط هیپرگلیسمی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش ها: بدین منظور ۲۴ موش صحرایی نر ویستار به چهار گروه کنترل، هیپرگلیسمی (STZ; 55 mg/kg)، هیپرگلیسمی+انسولین (STZ+Ins; 5 IU/kg/day) و هیپرگلیسمی+عصاره (STZ+Ext; 150 mg/kg/day) تقسیم شدند. دوره تیمار ۲۱ روز بود و طی این مدت در روزهای۱۴ و ۲۸ از همه موشها خونگیری و سطوح سرمی فاکتورهای بیوشیمیایی و آنزیمهای کبدی اندازه گیری شد. پس از آن در پایان هفته هفتم از کبد رتها مقاطع میکروسکوپی تهیه و ساختار کبد مورد بررسی هیستولوژیکی قرار گرفت.

یافته ها: در مقایسه با گروه کنترل، میانگین سطوح سرمی گلوکز و تری گلیسرید در هفته دوم در گروههای STZ و STZ+Ins ($p<0.05$) و در هفته چهارم سطوح سرمی آنزیمهای کبدی (ALP,ALT,AST) در هر سه گروه تجربی ($p<0.001$) افزایش معنی دار نشان داد. البته افزایش فاکتورهای بالا در گروه STZ+Ext ، ($p<0.05$) بطور آشکاری خفیفتر از دو گروه دیگر بود. از لحاظ بافت شناسی تفاوت مشهودی در مقاطع بافتی کبد در بین گروهها دیده نشد.

نتیجه گیری: هیپرگلیسمی احتمالاً با القای استرس اکسیداتیو و افزایش تولید رادیکالهای آزاد باعث آسیب غشای هپاتوسیتها و نشت آنزیمهای سیتوزولی به جریان خون می شود. چنین به نظر می رسد که عصاره گیاه چرخه، احتمالاً به دلیل محتوای فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانتی، می تواند از افزایش پیشرونده سطوح آنزیمهای کبدی جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: گیاه چرخه، هیپرگلیسمی، آنزیم های کبدی، انسولین

مقدمه

بیماری دیابت نوع یک، که به علت تخریب سلول های بتای پانکراس ایجاد می گردد حدود ۱۰ درصد از کل موارد دیابت را تشکیل می دهد [۶]. از آنجا که دیابت نوعی اختلال متابولیک است از اینرو ممکن است اندامهای دخیل در فرآیندهای متابولیک از جمله کبد را نیز درگیر نماید. درمان دارویی دیابت عمدتا با تجویز داروهای خوراکی صناعی پایین آورنده قند خون مانند بی‌گوآنیدها، سولفونیل اوره ها، تیازولیدین

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: behnam@um.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Archive of SID
www.SID.ir

دیون‌ها و مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و در شرایط پیشرفته بیماری، تجویز انسولین صورت می گیرد [۱،۷]. از آنجا که داروهای شیمیایی دارای اثرات جانبی ناخواسته اند بیماران دیابتی و درمان‌گران بطور روزافزون در جستجوی روشهای درمانی جایگزین و از جمله استفاده از گیاهان دارویی کاهنده قند خون می باشند [۷،۱۷]. در این رابطه گیاهان از دیرباز همواره منبعی تجربه پذیر و تجدید پذیر برای تهیه داروها بوده‌اند بطوری که منشا بسیاری از داروهای کنونی نیز بطور مستقیم و یا غیرمستقیم از گیاهان است. در بررسی‌های اتنوبوتانیک اگرچه بیش از ۱۲۰۰ گونه گیاهی که دارای اثرات ضد دیابتی بالقوه می باشند گزارش گردیده است [۷] ولی از گیاه چرخه (*Launaea acanthodes*) صحبتی به میان نیامده است. در این رابطه اهالی بومی بعضی از مناطق بیابانی (کویری) استان خراسان معتقدند که مصرف جوشانده این گیاه قند خون را پائین می آورد. مقایسه نتایج آزمایشات پاراکلینیکی بعضی از بیماران مبتلا به دیابت قندی، در قبل و بعد از مصرف جوشانده گیاه چرخه نیز تا حدودی موید همین مطلب است. این گیاه که با نامهای چرخان و چرخک نیز شناخته می شود، گیاهی است بیابانی که در طب سنتی از صمغ حاصل از ساقه آن به عنوان داروی مؤثر در درمان بیماریهایی مانند اختلالات عصبی، دردهای موضعی و مفصلی استفاده می شود [۱۱،۱۴]. صمغ گیاه چرخه به دلیل دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی دارای اثرات شبه بنزودیازپینی است و از اینرو برای درمان صرع نیز مورد استفاده قرار می گیرد [۱۱]. نتایج مطالعه ای که اخیرا صورت گرفته است نیز نشان می دهد که اثرات تجویز عصاره آبی–الکلی گیاه چرخه در کاهش قند خون در موش های صحرایی هیپرگلیسمیک با نتایج رضایت بخشی همراه بوده است [۳].

کبد، بعنوان یکی از اندامهای وابسته به انسولین، شدیداً تحت تاثیر دیابت قرار می گیرد [۲۸]. در کلینیک، افزایش سطوح آمینوترانسفرازها، مشتمل بر آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، را بعنوان معیار اختصاصی تشخیص نکروز هپاتوسلولار در نظر می گیرند (۹). این آنزیمها با آسیب غشای سلولی هپاتوسیتها به گردش خون آزاد می شوند [۲۶]. همچنین از افزایش سطح آلکالین فسفاتاز (ALP) بعنوان تشخیص بیماری پارانشیمی کبد ناشی از انسداد صفراوی استفاده می شود [۳۰]. از اینرو، اندازه گیری سطوح آنزیم های ALT، AST و ALP دارای اهمیت کلینیکی و توکسیکولوژیکی است زیرا تغییر در میزان فعالیت این آنزیم ها نشان دهنده آسیب بافت ناشی از سموم و یا بیماری است [۴،۱۲] بطوری که افزایش ALT و AST را بعنوان مارکر آسیب هپاتوسلولار و افزایش ALP را بعنوان مارکر نقص در جریان و دفع صفرا در نظر می گیرند [۹]. در تحقیق حاضر برای تعیین اثرات احتمالی حفاظتی– درمانی عصاره گیاه چرخه بر عملکرد کبد، تغییرات سطوح آنزیمهای کبدی و ساختار بافتی کبد در موشهای صحرایی هیپرگلیسمیک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

در این تحقیق از موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده سنی ۴ تا ۵ ماه و محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. این حیوانات در شرایط استاندارد با دمای ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و ساعات روشنایی _تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری و با آب و غذای استاندارد موش صحرایی مورد تغذیه قرار گرفتند. موش های صحرایی به صورت تصادفی به چهار گروه شش تایی شامل یک گروه کنترل و سه گروه آزمایشی تقسیم شدند. گروه کنترل تحت هیچ تیماری نبود. در سه گروه تجربی به منظور القای دیابت نوع یک تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز mg/kg ۵۵ وزن بدن انجام شد [۲۷]. ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ به منظور اطمینان از ایجاد دیابت نوع یک قند خون ناشتای حیوانها اندازه گیری و پس از تایید القای هیپرگلیسمی، یکی از گروه ها، بعنوان گروه کنترل مثبت (STZ+Ins)، تحت تزریق زیر پوستی انسولین با دوز IU/kg/day ۵ به مدت ۲۱ روز بطور روزانه قرار گرفت. به موشهای گروه دوم جهت تیمار با عصاره گیاه چرخه (STZ+Ext) به روش درون صفاقی عصاره با دوز mg/kg ۱۵۰ به مدت ۲۱ روز بطور روزانه تزریق شد. گروه تجربی سوم به عنوان کنترل منفی (STZ) هیچگونه تیماری دریافت نکرد. این حیوانات به مدت ۷ هفته پس از القای هیپرگلیسمی، در شرایط استاندارد و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در طی دوره آزمایش در دو مرحله (پایان هفته دوم و هفته

Archive of SID
www.SID.ir

چهارم) از تمامی حیوانات نمونه خون تهیه و فاکتورهای بیوشیمیایی خون مانند گلوکز، انسولین، تری گلیسرید، کلسترول، کلسترول–LDL و نیز سطوح سرمی آنزیم های کبدی ALP, AST, ALT اندازه گیری شد. اندازه گیری آنزیم های کبدی در آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر اجتهادی و به روش فتومتریک انجام شد. کیت تشخیص کمی ALP در سرم با روش DGKC (کینتیک فتومتری) منطبق با روش استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان ۱۹۷۰ و کیت تشخیص کمی ALT و AST در سرم با روش IFCC (فدراسیون بین المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) مورد استفاده و از شرکت سهامی خاص پارس آزمون تهیه شد. تزریق انسولین و عصاره به ترتیب در گروههای STZ+Ins و STZ+Ext از روز سوم پس از القا دیابت آغاز و به مدت ۲۱ روز انجام شد. کلیه تزریقات بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح صورت گرفت و کلیه اصول اخلاقی مطابق با مبانی کمیته اخلاقی حمایت از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد رعایت گردید.

در پایان هفته هفتم پس از کشتن حیوانات از کبد آنها مقاطع بافتی تهیه شد و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلن – ائوزین مورد بررسی بافت شناسی قرار گرفت. جهت جمع آوری و تهیه عصاره در فصل تابستان و از مناطق اطراف مشهد گیاه چرخه جمع آوری و در بخش هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه آزاد واحد مشهد مورد شناسایی قرار گرفت. اندام های هوایی گیاه در مجاورت هوا و به دور از تابش نور خورشید خشک گردید و پس از خشک شدن، پودر شده و از الک گذرانده و سپس جهت عصاره گیری مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره گیری به روش سوکسله و با اتانول ۷۰٪ انجام گرفت. بدین منظور ۱۰۰ گرم از پودر تهیه شده داخل کاغذ صافی قرار داده شد و درون فلاسک دستگاه قرار داده شد. سپس اتانول ۷۰ درصد در فلاسک ریخته شد و درجه حرارت دستگاه مطابق با نقطه جوش حلال تنظیم گردید. عصاره گیری به مدت ۱۲ ساعت انجام شد.

عصاره بدست آمده به منظور تغلیظ و حذف حلال برای مدت دو ساعت در روتاری قرار داده شد. پس از حذف حلال، خشک کردن عصاره و تعیین راندومان آن (۲۰ درصد) مقدار ۶۰۰ میلی گرم از آن وزن و در حجم ۸ سی سی آب مقطر حل شد تا محلول پایه برای تزریق به حیوانات حاصل شود. به محلول حاصل به ازاء هر ۸ سی سی آب مقطر ۰/۲ سی سی توئین ۸۰ افزوده شد تا فاز الکلی عصاره به خوبی به صورت محلول در آید. حجم مورد نیاز از محلول پایه برای تزریق به هر موش صحرایی با توجه به دوز تزریقی عصاره (۱۵۰ میلی گرم

جدول ۱- مقایسه میزان سرمی گلوکز، انسولین، تری گلیسرید، کلسترول و کلسترول–LDL در گروههای تجربی و کنترل

Groups / Factor	Control	Hyperglycemia		Hyperglycemia+Insulin		Hyperglycemia+Extract	
		2nd week	4th week	2nd week	4th week	2nd week	4th week
Glucose (mg/dl)	133.67±8.03	423.33±52.85 **	±19.48 502.17 ⊖*** •	338±60.04 *	306±63.50	163.33±20.63	181.67±59.41
Insulin (mIU/ml)	3.67±0.42	2.86±0.39 ⊖	3.28±0.22	5.1±0.82	4.68±0.79	6.5±0.9 *	4.87±0.25
Triglyceride (mg/dl)	70.83±2.14	233.17±18.38 ##***	100.17±5.93	224.5±36.55 # **	105.50±11.31 ⊖*	151.25±15.37 #	74.75±6.26
Cholesterol (mg/dl)	83.17±8.48	195.17±14.62 ##***	96.70±9.74	181.83±20.14 ## **	91.16±10.35 *	153.2±13.6	85.5±2.87
LDL (mg/dl)	56.83±7.05	106.17±2.99 ##***	64.17±6.13	92.33±3.77 ##***	59.83±6.04 ***	88.4±3.67	60±7.32

اعداد به صورت میانگین±انحراف از خطای معیار (SEM) ارائه شده اند (n=۶). نتایج آزمون Tukey: *P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱ مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی گروههای تجربی با گروه کنترل. ●P<۰/۰۵ مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی بین گروه های STZ و STZ+Ins. ΘP<۰/۰۵ مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی بین گروه STZ+Ext با گروههای STZ و STZ+Ins. #P<۰/۰۵، ##P<۰/۰۱، ###P<۰/۰۰۱ مقایسه بین هفته دوم با هفته چهارم.

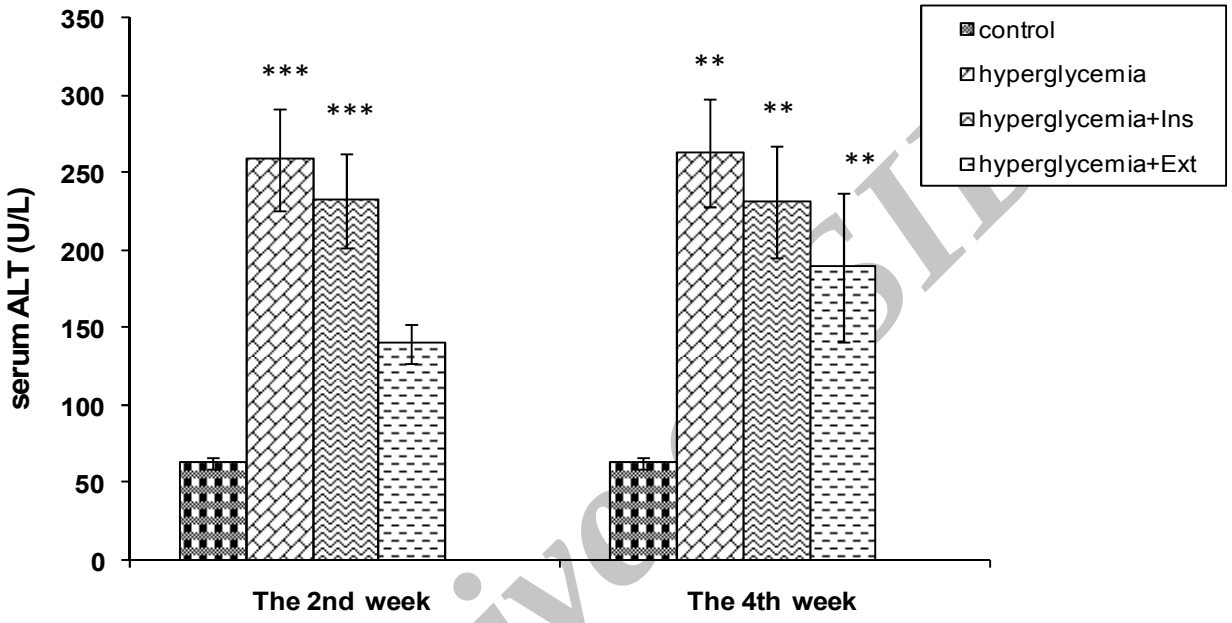
Archive of SID
www.SID.ir

بر کیلو گرم وزن بدن) و وزن بدن محاسبه گردید و به صورت درون صفاقی تزریق شد.

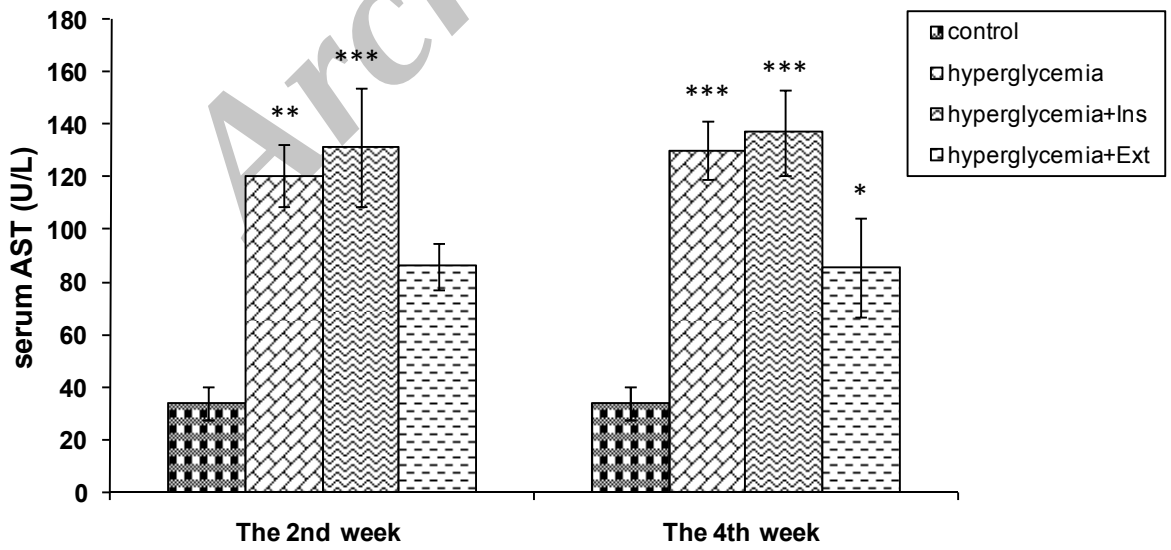
به منظور تجزیه و تحلیل آماری بر روی یافته های به دست آمده، ابتدا با استفاده از نرم افزار SPSS آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one-way) انجام و از نظر آماری مقادیر P<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. در صورت وجود اختلاف معنی دار میان گروهها و به منظور تفکیک گروههایی که با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند از آزمون Tukey استفاده شد. نمودارهای مربوطه نیز توسط نرم افزار Excel رسم گردید.

یافته ها

دو هفته پس از القای دیابت، و در مقایسه با گروه کنترل،

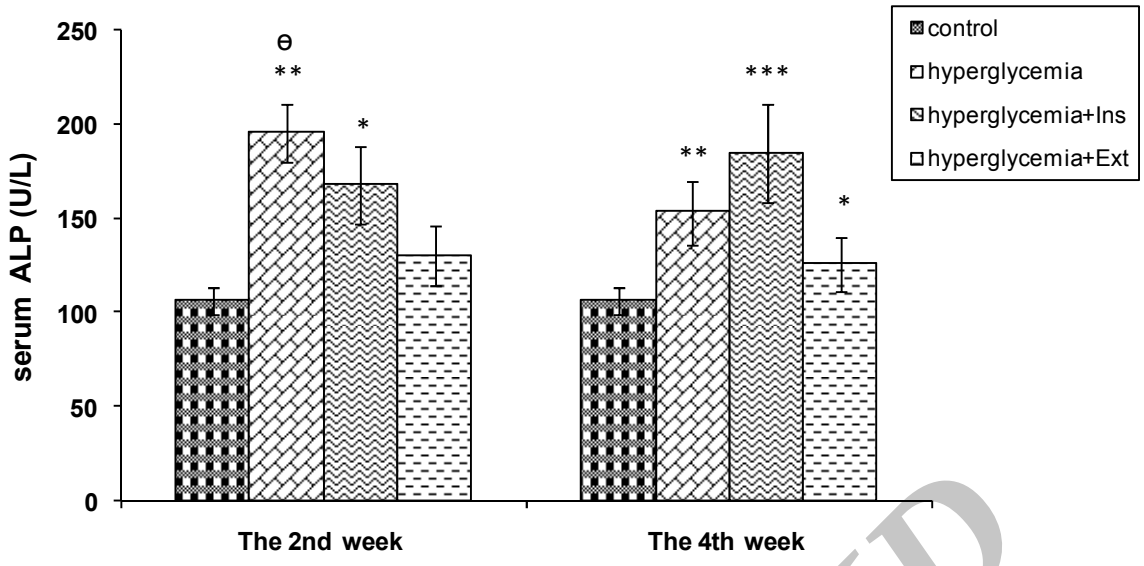


شکل۱- مقایسه میزان غلظت ALT سرم در گروههای کنترل و تجربی (n=۶). نتایج آزمون آماری Tukey: ۰/۰۰۱>P***، ۰/۰۱>P** مقایسه با گروه کنترل.



شکل۲- مقایسه میزان غلظت AST سرم در گروههای کنترل و تجربی (n=۶). نتایج آزمون آماری Tukey: ۰/۰۰۱>P***، ۰/۰۱>P** و ۰/۰۵>P* مقایسه با گروه کنترل.

www.SID.ir
Archive of SID



شکل۳- مقایسه میزان غلظت ALP سرم در گروههای کنترل و تجربی (n=۶). نتایج آزمون آماری Tukey: P<۰/۰۰۱***، P<۰/۰۱** و P<۰/۰۵* مقایسه با گروه کنترل. P<۰/۰۵Θ مقایسه با گروه STZ+Ext.

در گروههـــای STZ و STZ+Ins افـــزایش معنـــی داری در میانگین گلوکز، تـری گلیسـرید، کلسـترول، LDL (جـدول ۱)، ALT، AST و ALP (شکل۱،۲،۳) مشاهده شد. هم چنـین در گـروه STZ+Ext اگرچـه افـزایش معنـی داری در میـانگین انسولین و کلسترول (P<۰/۰۵) و همچنین LDL (P<۰/۰۰۱) مشاهده شد ولی در میانگین گلوکز، تری گلیسرید (جـدول۱) و سطوح ALT، AST و ALP (شکل۱،۲،۳) اختلاف معنی داری دیده نشد.

چهار هفته پس از القای دیابت، و در مقایسه با گروه کنترل، درگروه STZ میانگین گلوکز (P<۰/۰۰۱) (جدول۱) و در گـروه STZ+Ins میانگین تری گلیسـرید (P<۰/۰۵) کماکـان بطـور معنی دار بالا بـود (جـدول۱) ولـی در مـورد سـایر فاکتورهـای بیوشیمیایی در هر سه گروه تجربی اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

در هفته چهارم سطوح سـرمی آنـزیم هـای کبـدی ALT، AST و ALP در هر سه گروه هیپرگلیسـمیک افـزایش معنـی داری را نشان دادند (شکل۱،۲،۳). مقایسه سطوح سرمی آنزیم-های کبدی در بـین گروههـای تجربـی تفـاوت معنـی داری را نشان نداد. نتایج حاصل از بررسی بافت شناسی نشان داد که از لحـاظ سـاختاری، تفـاوت مشـهودی در مقـاطع بـافتی کبـدی نمونه های مربوط به گروههای تجربـی و گـروه کنتـرل وجـود ندارد (شکل۴).

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می دهـد کـه دو هفتـه پس از القای دیابت، در مقایسه با گـروه کنتـرل، در گروههـای STZ و STZ+Ins سـطح گلـوکز خـون بطـور معنـی داری بالاست در حالیکه درگروه STZ+Ext این چنین افزایش معنی داری دیـده نمـی شـود (جـدول۱). ایـن یافتـه، بیـانگر اثـرات هیپوگلیسمیک عصاره گیاه چرخه، حداقل در کوتاه مدت اسـت. خاصیت پائین آورنده ای قند خون عصاره این گیاه را می تـوان بـه اثـرات آنتـی اکسـیدانی ترکیبـات فلاونوییـدی [۱۴] و یـا ترکیبـات آلکالوییـدی، ترپنوییـدی [۱۹] و گلیکوزیـدی [۲۹] موجود در عصاره نسـبت داد. فلاونوییـدها دارای اثـرات آنتـی اکسیدانتی [۱۳] هستند و موجب کاهش قند خـون مـی شـوند [۲۲]. در مطالعـات قـدیمی تـر، اثـرات هیپوگلیسـمیک گونـه *L.nudicaulis* را بـه نـوعی گلیکوزیـد بـه نـام بنگالنوزیـد (Bengalenoside) نسبت داده اند [۲]. کسب نتایج مشابه در گروه STZ+Ins با گروه STZ می‌تواند به علـت عـدم تشـابه ساختاری انسولین انسانی با انسولین رت و یا ناکافی بـودن دوز انسولین اگزوژن در کاهش قند خون باشد. زیرا در گروهـی کـه تحت تیمار با انسولین بودند قند خون کماکـان در سـطوح بـالا حفظ شـده بـود. عـلاوه بـر گلـوکز، بـالا بـودن سـطوح سـایر فاکتورهای بیوشیمیایی خون از قبیل تری گلیسرید، کلسترول و

Archive of SID
www.SID.ir

LDL در گروههـای STZ و STZ+Ins (جـدول۱) حـاکی از آنست که هیپرگلیسمی ناشی از تخریب سلولهای بتـای جزایـر لانگرهانس موجـب القـای دیابـت و بـروز اخـتلال متابولیـک گردیده است. این اختلال در گروه STZ+Ext قدری ملایم تر است زیرا در سطح تری گلیسـرید سـرم افـزایش معنـی داری دیده نمی شود. نتایج بدست آمده از آنالیز بیوشیمایی سرم خون در هفته چهارم نشان می دهد که اگرچه سطوح این فاکتورها به مقادیر گروه کنترل نزدیک شده است ولی این کاهش در گـروه STZ+Ext محسوس تر است. از اینرو چنین بنظر می رسد که تجویز عصاره توانسته است بطـور مـوثرتری از شـدت اخـتلال متابولیک ناشی از هیپرگلیسمی بکاهد. در توجیه این یافته مـی توان چنین استدلال کرد که در گروه STZ، کمبـود انسـولین و در گروههای STZ+Ins و STZ+Ext کمبود و یا ناکافی بودن انسولین موجب نـاتوانی سـلولها در مصـرف گلـوکز و متعاقـب تشدید مصرف چربی ها و پروتئین هـا گردیـده اسـت. در ایـن رابطه، مقادیر مربوط به سطح انسولین سرم نشان می دهد کـه در هفته دوم آزمایش، سطح انسولین در گروه STZ بطور معنی داری کمتر و در گروه STZ+Ext به طور معنی داری بـالاتر از گزوه کنترل است (جدول ۱). وجود مقادیر قابـل انـدازه گیـری انسولین در سرم خون گـروه STZ بیـانگر آنسـت کـه تزریـق استرپتوزوتوسین به احتمال زیاد تمـامی سـلولهای بتـای جزایـر لانگرهانس را منهدم نکرده اسـت بنـابراین افـزایش معنـی دار سطح انسولین گروه STZ+Ext، نسـبت بـه گـروه کنتـرل، را می توان بـه اثـرات احتمـالی هیپرتروفیـک و یـا هیپرپلازیـک عصاره گیاه چرخه بر سلولهای بتای باقیمانده نسبت داد. مقادیر اندازه گیری شده انسولین در نمونه های سرمی مربوط به هفته چهارم نشان می دهد که در گروه STZ سطح انسولین بتـدریج افـــزایش و در گروههـــای STZ+Ins و STZ+Ext بتـــدریج کاهش یافته (احتمالا بدلیل اثرات ناشی از فیدبک منفـی) و بـه مقدار گروه کنترل نزدیک شده است (جدول ۱).

نتایج حاصل از اندازه گیری مارکرهای کبدی در پایان هفته دوم در گروههای STZ و STZ+Ins نشان مـی دهـد کـه، در مقایسه با گروه کنترل، سطوح سرمی آنزیم های ALT، AST و ALP افزایش معنـی داری یافتـه اسـت در حالیکـه در گـروه STZ+Ext این چنین افزایشی دیده نمی شـود (شـکل۱،۲،۳). اندازه گیری سطوح سرمی آمینوترانسفرازها، AST و ALT، در واقع اندازه گیری آن مقدار از آنزیم های داخل سلولی است کـه به جریان خون نشت کرده اند [۱۰]. از آنجا که ایـن آنـزیم هـا شاخص عملکرد کبد هستند و سطوح نرمال آن ها نشان دهنده عملکرد طبیعی کبد است [۱۰] بنابراین می توان چنـین نتیجـه گیری کرد که در گروههای STZ و STZ+Ins عملکـرد کبـد آسیب دیده و در گروه STZ+Ext آسیب عملکردی کبد بطـور محسوسی کمتر است.

در موش های صحرایی دیابتی شده، برای افـزایش سـطوح سرمی آنزیم ها می توان دو دلیل ذکر کرد: ۱) اثـرات ناشـی از القای دیابت و کمبود انسولین بر متابولیسم کبـد [۱۰،۲۳] و ۲) آسیب غشای هپاتوسیت ها. آسیب غشای هپاتوسـیت هـا، کـه منجر به نشت آنزیم ها از سیتوزول به جریان خـون مـی شـود، خـــود ممکنســـت ناشـــی از اســـترس اکســـیداتیو حاصـــل از هیپرگلیسمی باشد [۲۵،۱۰،۱۶] و یا از اثـرات سـمی STZ بـر روی کبد [۵،۱۲] ناشی گردد.

در ارتباط با دلیـل اول (تـاثیر دیابـت بـر متابولیسـم کبـد) مـی تـوان چنـین گفـت کـه آمینوترانسـفرازها، آنـزیم هـای گلوکونئوژنیک اند و مستقیماً با تبدیل آمینواسیدها به کتواسیدها مرتبط اند. از آنجا که بیان ژن این آنزیمها بـه وسـیله انسـولین مهار می شـود [۲۳] بنـابراین افـزایش سـطوح سیتوسـولیک و سرمی این آنزیم ها می تواند شـاخص اخـتلال در سـیگنالینگ انسولین باشد [۲۳]. علاوه بر این، افزایش کاتابولیسم پروتئینها و گلوکونئوژنز دیابتی ممکن است ناشی از افزایش ایـن تـرانس آمیناز ها باشد [۲۰].

در ارتباط با دلیل دوم (آسیب غشـای هپاتوسـیت هـا) بایـد اشاره کرد که جزئیات مکانیسـمی کـه تحـت آن آنـزیم هـا از سیتوسول و میتوکندری هپاتوسیت ها آزاد می شوند بطور دقیق مشخص نیست. در عین حال نتایج حاصل از مطالعـات تجربـی نشان می دهند که تغییرات هرچند اندک در سـاختار و عملکـرد غشاء به آنزیم های داخل سلولی اجازه مـی دهـد تـا از سـلول خارج و وارد فضاهای خارج سلولی شوند [۳۱]. برای آنزیمهـای کبدی معمولاً شیب غلظتی بالایی بین هپاتوسیت ها و فضـای سینوزوئیدی وجود دارد از اینرو آسیب سلولی به همراه افـزایش نفوذپذیری غشاء می تواند موجب نشت آنزیم های سیتوسـولی به سینوزوئیدها و از آنجا به جریان خون شـود [۳۱]. در همـین راستا، برخی از گزارشات منتشر شده نشت آنزیم ها از سیتوسول

Archive of SID
www.SID.ir

بـه جریـان خـون را بـه اثـرات هپاتوتوکسـیک STZ نسـبت می دهند [۵،۱۲]. بر پایه گزارشات موجود، استرپتوزوتوسـین از طریق گلوکز ترانسپورتر ۲ (GLUT2) جذب سـلول هـای بتـا می شود و سپس با کاهش سطح سلولی NAD^+ موجب نکـروز سلول های بتا می گردد [۲۷]. از آنجا که GLUT2 عـلاوه بـر سلول های بتا در کلیه و کبـد جونـدگان نیـز بیـان مـی شـود، بنابراین این احتمال وجود دارد که جذب STZ توسـط سـلول- های کلیوی و کبدی، مشابه با سلول های بتا، این سلول هـا را نیز در معرض نکروز سلولی قرار دهد. از این رو اثرات احتمـالی خارج پانکراسی STZ را نمی توان نادیده گرفت [۲۷].

نتایج حاصل از بررسی های کلینیکـی و مطالعـات تجربـی نشان می دهند که استرس اکسیداتیو، به عنوان عدم تعادل بین اکسیدانت ها و آنتی اکسیدانت ها، در پاتوژنز بیمـاری دیابـت و عوارض ناشـی از آن نقـش بسـزایی دارد [۱۵]. یکـی از منـابع عمده رادیکال های آزاد، واکنش گلوکز با پـروتئین هـا و تولیـد محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون پیشرفته، کـه بـه نوبـه خـود تولید رادیکال های آزاد را افزایش می دهد، می باشد [۱۵،۱۶]. بیماران مبتلا به دیابت نوع یک، علاوه بر هیپرگلیسـمی، غالبـا در معرض هیپرکتونمی و یا کتوزیس، که به دلیل مصرف چربی رخ می دهد نیز می باشند. در این رابطه افزایش پراکسیداسیون چربی، در بسیاری از بافت ها از جمله کبد [۱۲]، افزایش تولیـد ROS ناشی از کتوزیس و بدنبال آن وقوع استرس اکسـیداتیو و اختلال عملکـرد سـلول گـزارش گردیـده اسـت [۱۵]. در ایـن رابطه، ترکیبات طبیعی از جمله اسانس هـا و عصـاره بعضـی از گیاهان، بدلیل خواص آنتی اکسیدانی [۲۱] می توانند غشـاهای سلولی و ملکولهای حیاتی را در مقابل اکسیدانت ها حفظ کننـد [۱۸،۲۴]. عصاره گیاه چرخه به احتمال زیـاد دارای ایـن چنـین خواص آنتی اکسیدانتی است.

نتایج حاصل از بررسی بافت شناسی کبـد، کـه در طـی آن فاکتورهایی از قبیل ذخیره چربی در هپاتوسیت ها، وجود یا عدم وجود فیبروز، وضعیت هسته و عروق پورت و مجاری صـفراوی مورد توجه قرار گرفتند، نشان می دهد کـه از نظـر فاکتورهـای بالا بین گروههای تجربی و کنترل تفاوت مشهودی وجود ندارد و ساختار کبد در طی دوره آزمایش (۷ هفته) دست نخورده باقی مانده است (شکل ۴). نتایج منتشـر شـده مربـوط بـه برخـی از مطالعات انسانی نیز حاکی از آنسـت کـه در بیمـاران مبـتلا بـه دیابت نوع یک، علی رغم وجود تست هـای کبـدی غیرنرمـال، بافت کبد دست نخورده و طبیعی باقی مـی مانـد [۸]. البتـه در برخی از مطالعات تجربی آسیب های بافتی مثل تجمع قطـرات چربی و کاهش سطح گلیکوژن در سیتوپلاسم هپاتوسیت ها در ۸ هفتـه پـس از القـای دیابـت گـزارش گردیـده اسـت [۳۱]. بنابراین چنین به نظر مـی رسـد کـه، حـداقل در کوتـاه مـدت، بیمـاری دیابـت و یـا هیپرگلیسـمی القـایی ناشـی از تزریـق استرپتوزوتوسین موجب آسیب ساختاری در بافت کبد نمی شـود و از اینرو بین سطوح سرمی افزایش یافته آنزیم هـای کبـدی و میزان آسیب هپاتوسیتها رابطه قدرتمندی وجود ندارد.

در موش صحرایی، هیپرگلیسمی القاء شده ناشـی از تزریـق استرپتوزوتوسین اگرچه عملکرد و متابولیسم کبد را بـه سـرعت تحت تاثیر قرار می دهد ولی در کوتـاه مـدت موجـب تغییـرات هسیتولوژیک در بافت کبد نمی شود. بر اساس نتایج حاصـل از تحقیق حاضر می توان چنـین نتیجـه گیـری کـرد کـه تجـویز عصـاره آبـی- الکلـی گیـاه چرخـه بـه موشـهای صـحرایی هیپرگلیسمیک قادر است از افزایش شدید سطوح سرمی گلـوکز و آنزیم های کبدی جلوگیری کند. این چنین اثـرات حفـاظتی- درمانی را می تـوان بـه ترکیبـات فلاونوئیـدی و خـواص آنتـی اکسیدانتی عصاره گیاه چرخه نسبت داد.

سپاسگزاری

بدینوسـیله نویسـندگان مقالـه مراتـب تشـکر و قـدردانی خـود را از مسـاعدتهای صـمیمانه آقـای دکتـر ناصـر مهـدوی شـهری در ارزیـابی هیستولوژیکی مقاطع بافتی کبد و نیز همکاری کارشناسـان و تکنسـینهای گروه زیست شناسی در اجرای پروژه حاضر اعلام می دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

References

[1] Aiken SP, Brown WM. Treatment of epilepsy: Existing therapies and future developments. ***Front Biosci*** 5 (2000) 124-152.

[2] Augusti KT. Hypoglycaemic action of bengalenoside a glucoside isolated from *Ficus bengalensis* Linn- in normal and alloxan diabetic rabbits. ***Indian J Physiol Pharmacol*** 19 (1975) 218-20.

[3] Behnam-Rassouli M, Ghayour N, Ghayour MB, Ejtehadi MM. Investigating the effects of hydro-alcoholic extract of *Launaea acanthodes* on the serum levels of glucose, insulin, lipids and lipoproteins in stereptozotocin induced type I diabetic rats. ***Arak Medical University Journal (AMUJ)*** (2011) In Press.

[4] Bolkent S, et al. The effects of vitamin B6 on the liver of diabetic rats: A morphological and biochemical study. ***IUFS J Biol*** 67 (2008) 1-7.

[5] Chandramohan G, Al-Numair KS, Pugalendi KV. Effect of 3-hydroxymethyl xylitol on hepatic and renal functional markers and protein levels in streptozotocindiabetic rats. ***African Journal of Biochemistry Research***, 3 (2009) 198-204.

[6] Conget I. Diagnosis, classification and pathogenesis of diabetes mellitus. ***Rev Esp Cardiol***, 55 (2002) 528-535.

[7] Dey L, Attele AS, Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. Altern. ***Med. Rev***. 7 (1) (2002) 45 – 58.

[8] Harris EH. Elevated liver function tests in type 2 diabetes. ***Clin Diabetes*** 23 (2005) 115-119.

[9] Hasan FAM, Owyed S. Interpretation of liver chemistry tests. ***Bull Kuwait Inst Med Spec***. 2 (2003) 27-31.

[10] Hassanen NHM. Protective effect of cinnamon clove and ginger spicces or their essential oils on oxidative stress of streptozotocin-induced diabetic rats. ***Arab Universities Journal of Agricultural Sciences***.18 (2010) 137-154.

[11] Karimidokht shahrbabaki A, Oryan S, Parivar K.Anticonvulsant activity of ethanolic extract and aqueous fraction of Launaea acanthodes gum in comparison with diazepam in mice. ***JQUMS*** 13 (2009) 14-20.

[12] Koyuturk M, Tunali S, Bolkent S, Yanardag R, et al. Effects of vanadyl sulfate on liver of streptozotocin-induced diabetic rats**.** ***Biol Trace Elem Res*** 104 (2005) 233-247.

[13] Lukacinova A, Mojzis OJ, Benacka R, Keller J, Maguth T, Kurila P and et all. Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Mellitus in Rats. ***ACTA VET. BRNO*** 77 (2008) 175-182.

[14] Mahmodi Y, Yasa N. Investigation of chemical structure of Launaea Acanthodes (Bioss) O. Kontz flavonoids. [dissertation] ***La. Pharmacology faculty***, (1995), (MO): 3346 Tehran University.

[15] Manna P, Das J, Ghosh J, Sil PC. Contribution of type 1 diabetes to rat liver dysfunction and cellular damage via activation of NOS, PARP, IκBα/NF-κB, MAPKs, and mitochondria-dependent pathways: Prophylactic role of arjunolic acid. ***Free Radical Bio Med*** 48 (2010) 1465-1484.

[16] Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. ***J Biochem and Molecullar Toxicology*** 17 (2003) 24-38.

[17] Marles R, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. ***Phytomedicine*** 2 (1995) 137- 46.

[18] Ohrvall M, Nalsen C, Vessby B. Vitamin E improves the antioxidative capacity but not the insulin sensitivity in elderly men. ***Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*** 7 (1997) 9-15.

[19] Piazza L, Bertini S, Milany J. Extraction and structural characterization of the polysaccharide fraction of Launaea acanthodes gum. ***j.carbpol*** 79 (2) (2009) 449-454.

[20] Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi K. V. Influence of casearia esculenta root extract on protein metabolism and marker enzymea in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Pol J Pharmacol*** 56 (2004) 587-593.

[21] Pulla Reddy CHA, lokesh BR. studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid proxidation of rat liver microsomes. ***Mol Cel Biochem***. 111 (1992) 117- 240.

[22] Ragavan B, Krishnakumari S. Antidiabetic effect of *T. arjuna* bark extract in alloxan induced diabetic rats. ***Indian Journal of Clinical Biochemistry,*** 21 (2) (2006) 123-128

[23] Ramesh B, Pugalendi KV. Impac of umbellifero (7-hydroxycoumarin) on hepatic marker enzymes in streptozotociv diabetic rats. ***Indian Journal of Pharmacology***, 38 (2006) 209-210.

[24] Rice Evans CA, Burdon RM. Free radical damage and its control. ***Amsterdam Elseri*** 46-9 (1994) 113.

Archive of SID
www.SID.ir

[25] Sultan MT, Butt MS, Anjum FM, Jamil A. Influence of black cumin fixed and essential oil supplementation on markers of myocardial necrosis in normal and diabetic rats. ***Pakistan Journal of Nutrition*** 8 (2009) 1450-1455.

[26] Thapa BR, Walia A. Liver function tests and their Interpretation. ***Indian J Pediatr*** 74 (2007) 663-671.

[27] Thulesen J, Qrskov C, Holst J, Poulsen S, et al. Short term insulin treatment prevents the diabetogenic action of streptozotocin in rats**.** ***Endocrinology*** 138 (1997) 62-68.

[28] Tolman KG, et al. Narrative review: Hepatobiliary disease in type 2 diabetes mellitus**.** ***Ann Intern Med*** 14 (2004) 964-959.

[29] Wamegh A, Aeinehchi Y, Yasa N. Studies on Launaea acanthodes exudates. [dissertation]. (1986).(MO): ***La. Pharmacology faculty***, Tehran University.

[30] Yap CY, Aw TC. Liver function tests. ***Proceedings of Singapore Healthcare*** 19 (2010) 80-82.

[31] Zafar M. Naeem-ul-Hassan Naqvi S. Effects of STZ-induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: A comparative study**.** ***Int J Morphol*** 28 (2010) 135-142.

Archive of SID

www.SID.ir