

اثر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرگریو (*Nectaroscordum tripedale*) بر شاخص‌های عملکردی کبد و

کلیه در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده به وسیله‌ی

استرپتوزوتوسین

صدیقه پایدار^۱، دکتر غلامعلی جلودار^۱، دکتر جمشید محمدی^۲، نسترن محمدی^۳

(۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران، (۲) مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، (۳) دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، شیراز، ایران، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** یاسوج، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، دکتر جمشید محمدی؛
e-mail: j_mohammadi2005@yahoo.com

چکیده

مقدمه: اثرات بعضی از گیاهان خانواده‌ی گیاه سوسنیان که عنصری از این خانواده است، بر کاهش گلوکز، لیپیدها و آنزیم‌های خون گزارش شده است. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی خرگریو بر شاخص‌های عملکردی کبد و کلیه در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین می‌باشد. مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی نر، به طور تصادفی به پنج گروه هشت تایی تقسیم شدند. گروه‌های اول و سوم (شاهد سالم و دیابتی) دریافت‌کننده‌ی آب مقطر، گروه دوم، کنترل درمان دریافت‌کننده‌ی روزانه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرگریو، و گروه‌های چهارم و پنجم (دیابتی تحت درمان ۱ و ۲)، به ترتیب روزانه ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرگریو. موش‌های صحرایی به وسیله استرپتوزوتوسین، دیابتی شدند. طول دوره‌ی آزمایش، بیست و یک روز بود. میزان وزن و گلوکز ناشتا به صورت هفتگی اندازه‌گیری و ثبت شد. در پایان دوره‌ی درمان، نمونه‌ی خون از قلب جمع‌آوری و شاخص‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلبومین (ALB)، نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین و اوره خون اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرگریو، میانگین وزن را در گروه‌های دیابتی تحت درمان افزایش داد. همچنین باعث کاهش سطح فاکتورهای سرمی ALT، AST، ALP، BUN و افزایش سطح ALB، به صورت وابسته به دوز، در پایان دوره‌ی آزمایش شد. نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرگریو، به صورت وابسته به دوز، سبب بهبود شاخص‌های عملکردی کلیه و کبد در شرایط مورد آزمایش می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت قندی، خرگریو، کبد، کلیه، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۹۴/۱۰/۱۴ - دریافت اصلاحیه: ۹۵/۲/۴ - پذیرش مقاله: ۹۵/۲/۷

مقدمه

مطالعات برآورد کردند که در سال ۲۰۱۳ حدود ۳۸۲ میلیون نفر مبتلا به این بیماری بودند که در سال ۲۰۳۵ به ۵۹۲ میلیون نفر افزایش خواهد یافت.^۱ این بیماری با افزایش گلوکز خون مشخص می‌شود و از نقص در ترشح انسولین،

دیابت قندی سبب ایجاد اختلالات متعددی در کلیه، اعصاب، چشم، قلب و عروق و دیگر اعضای بدن می‌شود.

تری‌گیسرید، فشار خون، گلوکز، پلاکت‌ها و ترومبوسیت‌ها است.^{۱۵،۱۶} نتایج مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌ی سیر می‌تواند در جلوگیری از تغییرات آنزیم‌های نشانگر، کبد مانند AST و ALT، در موش‌های دیابتی شده مؤثر باشد و از تخریب بافت کبد در بیماری دیابت پیشگیری می‌کند.^{۱۷-۱۹} علی‌رغم تحقیقات زیاد در مورد ویژگی‌های گیاهانی از خانواده سوسنیان (Liliaceae) و اثرات مفید آن‌ها بر غلظت فاکتورهای بیوشیمیایی خون، تاکنون فقط یک گزارش در ارتباط با گیاه خرگریو منتشر شده است. بنابراین در تحقیق حاضر، اثر عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگریو بر شاخص‌های عملکردی کبد و کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکی

گیاه خرگریو در ارتفاعات کوه‌های شهرستان بویراحمد جمع‌آوری و توسط بخش گیاه‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه یاسوج با نام علمی *Nectaroscordum tripedale* شناسایی و نمونه‌ی سند آن به شماره HMRC 93-2 در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی نگهداری شد. برای تهیه‌ی عصاره، اندام‌های هوایی گیاه در سایه خشک و سپس با آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. به منظور تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگریو، ۷۰۰ گرم پودر با اتانول ۷۰ درصد مخلوط شد. محلول مورد نظر به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد، تا پودر گیاه خیس‌مانده شود. سپس محلول حاصله از پارچه‌ی منفذ دار و کاغذ صافی عبور داده شد. در مرحله‌ی بعد، به تفاله‌ی باقیمانده، اتانول ۷۰ درصد اضافه و مراحل قبلی دو بار تکرار شد. تمام محلول‌های به دست آمده به روش تقطیر در خلاء با استفاده از دستگاه روتاری (هیدولف-آلمان) عصاره‌گیری شدند. در مرحله‌ی آخر، عصاره در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد تا آب و الکل تبخیر شود و یک ماده قهوه‌ای رنگ غلیظ به دست آمد. وزن خشک ماده‌ی نهایی، ۱۱۴ گرم بود.

طراحی مطالعه

در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد اسپراگ داوولی^۱، با وزن تقریبی ۱۹۵-۲۹۵ گرم از دانشکده‌ی دامپزشکی شیراز تهیه و به آزمایشگاه حیوانات

مقاومت به عملکرد انسولین و یا هر دو نتیجه می‌شود.^۲ کبد دارای عملکردهای متعددی است و بیماری‌های کبدی از عوامل تهدیدکننده‌ی سلامت بشر هستند. آسیب سلول‌های کبدی و نقص در عملکرد آن‌ها، سبب افزایش میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سرمی می‌شود.^۲ افزایش آنزیم‌های کبدی، نظیر ALT و AST، ملاک‌هایی برای تشخیص تخریب سلول‌های کبدی هستند.^۴ ALT به طور عمده در کبد و AST در کبد و بافت‌های دیگر، از جمله عضلات قلبی، اسکلتی و مغز، یافت می‌شود. اما نشانگر اختصاصی برای آسیب کبدی آنزیم ALT است.^۵ یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌های کلیوی، دیابت قندی است و نفروپاتی دیابتی از رایج‌ترین عوارض ناشی از دیابت در جوامع در حال توسعه است که در نهایت منجر به نقص در عملکرد کلیه شده و سبب از کار افتادن آن می‌شود. امروزه در جوامع در حال توسعه و پیشرفته، دیابت و فشار خون به شایع‌ترین عوامل ایجادکننده بیماری‌های کلیوی تبدیل شده‌اند.^۴ در حال حاضر، درمان بیماری دیابت با استفاده از داروهای شیمیایی است که می‌تواند سبب عوارض نامطلوب و اختلال در کنترل دیگر بیماری‌ها شود.^{۶،۷} داروهای گیاهی به علت سهولت دسترسی، موثر بودن، ارزان بودن و عوارض جانبی بسیار کمتر، به طور وسیعی در جهان تجویز می‌شوند و مصرف آن‌ها در اولویت قرار دارد.^۸ مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی، شاخه‌ای از دارو درمانی مدرن بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند. گونه‌های آلوم مانند سیر، پیاز، تره و خرگریو به عنوان ماده‌ی غذایی، ادویه، چاشنی و داروی محلی مصرف می‌شوند. مطالعات متعددی در ارتباط با خاصیت ضد دیابتی گونه‌های آلوم انجام شده است.^{۹-۱۱} گیاه خرگریو با نام علمی *Nectaroscordum tripedale* از جنس *Tripedale* و از خانواده سوسنیان (Liliaceae) است. این گیاه در مناطقی از جهان شامل قفقاز، ترکیه، عراق و ایران رویش دارد. در ایران، بومی مناطق غرب ایران از جمله منطقه یاسوج است و از گیاهان خوراکی مردم این منطقه است. برگ‌های این گیاه دارای بوی نامطبوع و قوی هستند و شباهت زیادی به هم خانواده خود نظیر سیر دارند.^{۱۲} گیاه سیر دارای ترکیبات دارویی مؤثری، همچون آلتین، آلیسین، آنزیم آلیناز، اینولین و ویتامین‌های A، B و C است و دارای اثرات درمانی و ضد میکروبی است.^{۱۳،۱۴} گزارش شده است سیر دارای خواص کاهش‌دهندگی غلظت کلسترول تام، کلسترول LDL،

خون اندازه‌گیری و ثبت شد. در پایان آزمایش، حیوانات با استفاده از اتر بیهوش و نمونه‌های خون از قلب آن‌ها جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون به منظور ایجاد لخته به مدت یک ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند و سپس عمل سانتریفوژ انجام شد. سرم‌های تهیه شده، جهت اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم‌های AST، ALT، ALP، آلبومین، نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین و اوره به آزمایشگاه منتقل شدند و از کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون ایران و دستگاه اتوانالایزر BT-3000 استفاده شد.

تحلیل داده‌ها

داده‌های جمع‌آوری شده به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شدند و با نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۴) و توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس آزمون توکی تحلیل شدند. ($p < 0.05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقایسه‌ی میانگین وزن بدن قبل از شروع آزمایش در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، در حالی که در پایان دوره‌ی آزمایش، میانگین وزن بدن در گروه شاهد دیابتی نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). بین گروه شاهد سالم و گروه‌های دیابتی تحت درمان با عصاره‌ی هیدروالکی خرگیو، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، به عبارتی تجویز عصاره‌ی هیدروالکی خرگیو فقط باعث افزایش میزان وزن در موش‌های دیابتی تحت درمان شد (جدول ۱).

دانشکده پزشکی یاسوج انتقال یافتند. رعایت اصول اخلاقی به تایید کمیته‌ی اخلاق دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج رسید. حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه‌های اول و دوم، شاهد سالم و شاهد دیابتی دریافت‌کننده‌ی آب مقطر، گروه سوم شاهد تحت درمان دریافت‌کننده‌ی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی هیدروالکی خرگیو، و گروه‌های چهارم و پنجم، دیابتی تحت درمان ۱ و ۲ به ترتیب دریافت‌کننده‌ی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی هیدروالکی خرگیو بودند. حیوانات در دمای ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد و دوره‌ی ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی قرار داده شدند. آب و غذا در تمام دوره‌ی آزمایش بدون محدودیت در اختیار آن‌ها قرار گرفت. برای القای دیابت، از داروی استرپتوزوتوسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت تک دوز داخل صفاقی به صورت حل شده در بافر سیترات (PH=۴/۵) استفاده شد. برای اطمینان از القای دیابت، پس از سه روز تجویز استرپتوزوتوسین، گلوکز خون اندازه‌گیری و موش‌هایی که میزان گلوکز خون آن‌ها بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود، به عنوان دیابتی وارد مطالعه شدند.^{۱۷} طول دوره‌ی آزمایش، بیست و یک روز بود. عصاره‌ی تغلیظ شده، روزانه با دوزهای ۵۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آماده و در آب مقطر حل شد و به روش گاواژ به ترتیب به گروه‌های شاهد و دیابتی تحت درمان ۱ و ۲ تجویز شد. قبل از شروع آزمایش و در پایان هر هفته، از ناحیه دم خون‌گیری انجام شد و با استفاده از گلوکومتر، میزان گلوکز

جدول ۱- مقایسه‌ی اثر عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگیو بر وزن بدن (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه*

شاهد سالم	شاهد تحت درمان (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	شاهد دیابتی	دیابتی تحت درمان ۱ (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	دیابتی تحت درمان ۲ (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)
روز اول	۲۲۲/۲۲±۷/۸۰a	۲۳۵/۱±۹/۴۰a	۲۳۲/۵±۱۰/۵۰a	۲۳۶/۰±۴/۱۸a
روز ۲۱ دوره‌ی درمان	۲۸۳/۷۰±۲۱/۲۵a	۲۱۴/۸۰±۱۳/۳۷b	۲۹۰/۰±۱۸/۲۵a	۲۹۸/۰±۱۰/۹۲a
درصد تغییر	+۲۷/۶۶	-۸/۶۳	+۲۷/۷۳	+۲۶/۲۷

*مقادیر نشان‌دهنده‌ی میانگین±انحراف معیار هستند. حروف الفبای غیر یکسان در هر ردیف بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در گروه‌های مختلف است ($p < 0.05$). b کاهش معنی‌داری را در گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه‌های دیگر در روز ۲۱ دوره درمان نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

و ۲ (به ترتیب IU/L ۲۴۵/۳۳±۲۲/۰۶ و ۲۳۶/۲۷±۱۴/۱۹) نسبت به گروه شاهد دیابتی (IU/L ۳۹۲/۵۰±۴۲/۷۰) کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۲) ($p < 0.05$). میانگین AST بین

بررسی میانگین ALP سرم در گروه‌های مختلف نشان‌گر افزایش معنی‌دار در گروه شاهد دیابتی نسبت به سایر گروه‌ها بود. میزان ALP در گروه‌های دیابتی تحت درمان ۱

گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲) ($p < 0.05$). میانگین AST سرم در گروه‌های دیابتی تحت درمان ۱ و ۲ (به ترتیب $243/66 \pm 9/52$ IU/L و $190/32 \pm 12/87$ IU/L) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی ($p < 0.05$) ($298/20 \pm 37/89$ IU/L) داشت.

جدول ۲- مقایسه‌ی میانگین آنزیم‌های ALP، AST و ALT (IU/L) در گروه‌های مورد مطالعه*

شاهد سالم	شاهد تحت درمان (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	شاهد دیابتی	دیابتی تحت درمان ۱ (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	دیابتی تحت درمان ۲ (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)
240/75 ± 8/60 a	253/50 ± 24/55 a	292/50 ± 42/70 b	245/23 ± 22/06 a	236/27 ± 14/19 a
223/75 ± 14/19 a	197/00 ± 7/49 b	298/20 ± 37/89 b	243/66 ± 9/52 a	190/32 ± 12/87 a
109/75 ± 9/23 a	105/25 ± 7/19 a	182/80 ± 38/20 b	110/35 ± 7/23 a	87/50 ± 10/70 a,c

* مقادیر نشان‌دهنده‌ی میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف الفبای غیر یکسان در هر ردیف بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < 0.05$).

میانگین ALT در گروه شاهد دیابتی، افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها داشت (جدول ۲) ($p < 0.05$). همچنین میانگین مقادیر ALT سرم در گروه‌های تحت درمان ۱ و ۲ (به ترتیب $110/35 \pm 7/23$ IU/L و $87/50 \pm 10/70$) در مقایسه با گروه شاهد دیابتی ($182/80 \pm 38/20$ IU/L) کاهش معنی‌داری داشت. میانگین آلبومین در گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه‌های تحت درمان ۱، شاهد سالم و شاهد تحت درمان کاهش یافته بود، اما این کاهش معنی‌دار نبود.

جدول ۳- مقایسه‌ی میانگین میزان آلبومین، نیتروژن اوره‌ی خون کراتینین و اوره در گروه‌های مورد مطالعه*

شاهد سالم	شاهد تحت درمان (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	شاهد دیابتی	دیابتی تحت درمان ۱ (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	دیابتی تحت درمان ۲ (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)
4/22 ± 0/21 a	4/31 ± 0/21 a	3/80 ± 0/58 a	4/08 ± 0/26 a	4/52 ± 0/14 b
22/25 ± 2/61 a	19/75 ± 2/61 a	31/40 ± 2/00 b	24/25 ± 2/61 a	21/38 ± 1/06 a
0/3 ± 0/02 a	0/29 ± 0/04 a	0/57 ± 0/08 b	0/47 ± 0/05 b	0/37 ± 0/06 a
52/81 ± 5/24 a	54/26 ± 4/91 a	57/31 ± 5/24 b	62/48 ± 6/22 b	55/36 ± 7/14 a

* مقادیر نشان‌دهنده‌ی میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف الفبای غیر یکسان در هر ردیف بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($P < 0.05$).

میانگین آلبومین در گروه دیابتی تحت درمان ۲ نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش معنی‌داری داشت. این نتایج نشانگر تاثیر عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگوب، به صورت وابسته به دوز، در افزایش آلبومین در گروه‌های تحت درمان نسبت به سایر گروه‌ها بود (جدول ۳). میانگین نیتروژن اوره‌ی خون (BUN) در گروه شاهد دیابتی دارای افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها بود (جدول ۳) ($p < 0.05$). اما بین سایر گروه‌ها، اختلاف معنی‌داری در میزان BUN مشاهده نشد (جدول ۳). همچنین عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگوب در گروه دیابتی تحت درمان ۲، باعث کاهش سطح BUN تا محدوده‌ی طبیعی شد. میانگین میزان کراتینین در گروه شاهد دیابتی دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی بود ($p < 0.05$). همچنین کراتینین در گروه تحت درمان ۲، نسبت به گروه شاهد دیابتی، کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). همچنین عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگوب در این گروه باعث کاهش

سطح کراتینین تا محدوده‌ی طبیعی شد (جدول ۳). میانگین میزان اوره در گروه شاهد دیابتی دارای افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد سالم بود ($p < 0.05$). همچنین میانگین اوره در گروه تحت درمان ۲، نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۳) ($p < 0.05$).

بحث

در این مطالعه، تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرگریو باعث افزایش وزن در موش‌های دیابتی تحت درمان شد. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که القای دیابت در موش‌های صحرایی باعث کاهش وزن بدن می‌شود.^{۱۶،۱۷} کاهش وزن در گروه شاهد دیابتی، به علت ناکافی بودن انسولین، سبب کاهش ساخت لیپید می‌شود. از سوی دیگر، کمبود انسولین است که باعث ناتوانی بدن در مصرف گلوکز و در نهایت لاغری و میل به پرخوری می‌شود.^{۱۹} تاثیر افزایشی گیاهان دارویی در جلوگیری از کاهش وزن موش‌های دیابتی شده را می‌توان به عملکرد این گیاهان بر متابولیسم چربی‌ها و قند دانست. محمدی و همکارانش در مطالعه‌ی خود مشاهده کردند که روند کاهش وزن در موش‌های دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی هیدروالکلی برگ توت فرنگی تا حدود زیادی آهسته می‌شود و منجر به بهبودی می‌شود.^{۱۷} علاوه بر این، نتایج تحقیق لیو نشان داد که موش‌های صحرایی دیابتی که ۸۰ میلی‌گرم دی‌آلیل دی سولفید را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه دریافت می‌کردند، سرعت کاهش وزن بدن آن‌ها نسبت به گروه شاهد دیابتی به طور معنی‌داری کمتر بود.^{۱۸} مسجدی و همکارانش در مطالعه‌ی خود نشان دادند که، روند کاهش وزن در موش‌های دیابتی تیمار شده با آب سیر تا حدود زیادی آهسته می‌شود و تمایل به بهبودی وجود دارد.^{۱۹} طبق نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر احتمال دارد که ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه خرگریو، باعث افزایش میزان انسولین سرم می‌شود و انسولین با فعال کردن لیپوپروتئین لیپاز و مهار عملکرد آنزیم لیپاز حساس به هورمون باعث افزایش لیپیدسازی و ذخیره‌ی چربی و در نتیجه بهبود وزن در گروه‌های درمان می‌شود.

در مطالعه‌ی حاضر، القای دیابت به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین باعث افزایش سطح سرمی AST، ALT و ALP در گروه شاهد دیابتی نسبت به سایر گروه‌ها شد. آنزیم‌های ALT در سیتوپلاسم و AST در سیتوپلاسم و میتوکندری سلول‌های کبدی هستند. هنگامی که سلول‌های

کبدی آسیب می‌بینند، غشای آن‌ها نفوذپذیر می‌شود و این آنزیم‌ها در مقادیر زیاد به خون رها می‌شوند. نکرز سلول‌های کبدی، موجب ساخت زیاد آن‌ها و تغییرات در نفوذپذیری غشای سلولی می‌شود.^{۲۰} افزایش در سطح سرمی AST، ALT و ALP، ناشی از آسیب کبدی در اثر القای دیابت در موش‌های صحرایی و خروج این آنزیم‌ها از سیتوزول کبد به جریان خون است.^{۲۱} همچنین، افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها همراه با گلوکونئوژنز و تشکیل اوره که در بیماری دیابت دیده می‌شود، احتمالاً مسئول افزایش این ترانس آمینازها در خون است.^{۱۹} در بیماری دیابت، یکی از مکانیزم‌های ایجاد اختلال در بافت‌های مختلف، آسیب متابولیکی سلول در اثر استرس اکسیداتیو و نیز اختلال در عملکرد میتوکندری است.^{۲۲،۲۳} در بیماران دیابتی با چربی خون بالا، متابولیسم و فعالیت کبدی مختل می‌شود.^{۲۴} نتایج مطالعه‌ی نشان داد که درمان موش‌های دیابتی با سیر باعث برگشت فعالیت بالای آنزیم‌های پلازما به سطح طبیعی می‌شود.^{۲۵} در تحقیق حاضر، میزان آنزیم‌های AST، ALP و ALT در موش‌های دیابتی دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی خرگریو در مقایسه با گروه شاهد دیابتی، کاهش معنی‌داری را نشان داد. عصاره‌ی خرگریو با کاهش گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید خون از میزان ضایعات سندرم کبد چرب و لیپیدوز کبدی می‌کاهد و در نتیجه با بهبود کبد، فعالیت آنزیم‌های کبدی کاهش می‌یابد.^{۲۶} علاوه بر این، برگشت آنزیم‌های فوق به حالت طبیعی توسط عصاره‌ی هیدروالکلی خرگریو، دلیل واضحی بر اثرات حفاظتی عصاره‌ی این گیاه است که احتمال دارد علت آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مؤثری باشد که با ایجاد ثبات غشایی در سلول‌ها، سبب حفاظت از سلول‌های کبدی در مقابل استرس اکسیداتیو می‌شود و از آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به خون جلوگیری می‌کند. همچنین، امکان دارد عصاره‌ی خرگریو از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی، بهبود سطح انسولین و وجود ترکیبات S - آلکنیل سیستئین‌ها و آلیئین از پیشرفت آسیب‌های کبدی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین جلوگیری کند و باعث کاهش نشت این آنزیم‌ها از سلول‌های کبدی به درون پلازما شود.

میزان نیتروژن اوره‌ی خون و کراتینین از رایج‌ترین فاکتورهای بررسی عملکرد کلیه هستند و ارتباط نزدیکی با فیلتراسیون گلومرولی دارند.^{۲۷،۲۸} غلظت اوره‌ی خون می‌تواند به دلایل متعددی، نظیر افزایش تجزیه‌ی پروتئین، خونریزی

تحت تأثیر قرار می‌گیرند، این نتایج قابل قبول به نظر می‌رسند. استرپتوزوتوسین، علاوه بر اثرات مخرب و سمی بر سلول‌های بتای لوزالمعده، بر سایر اندام‌ها مانند کبد اثر می‌کند. لذا، کاهش میزان آلومین در گروه‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین قابل توجه است. در دیابت نوع اول، رادیکال‌های هیدروکسیل موجب آسیب رساندن به پروتئین‌هایی نظیر آلومین سرم و همچنین پروتئین‌های داخل سلولی و در نتیجه کاهش میزان آلومین سرم می‌شوند. از طرفی، دفع آلومین می‌تواند به دلیل افزایش رهاسازی آنزیم‌های لیزوزومی در پی افزایش استرس اکسیداتیو در دیابت باشد.^{۲۵} کاهش آلومین ممکن است به دلیل نشت اندک پروتئین در ادرار، افزایش متابولیسم پروتئین و نشت آن در ادرار که از نشانه‌های بالینی مهم در نفروپاتی دیابتی است، ایجاد شود.^{۲۶} در این مطالعه، کاهش سطح آلومین به دست آمده در گروه شاهد دیابتی، با تحقیقات توومو و شرما مطابقت دارد.^{۲۶،۲۷} نتایج مطالعات نشان داده‌اند که مصرف مواد حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند استرس اکسیداتیو درون سلولی را کاهش دهد.^{۲۸} مواد آنتی‌اکسیدانی با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد شکل گرفته به واسطه استرپتوزوتوسین، از ایجاد آسیب بیشتر جلوگیری کرده و احتمالاً این مکانیسم توجه‌کننده‌ی افزایش آلومین در گروه‌های دیابتی تحت درمان نسبت به گروه شاهد دیابتی است. احتمال دارد دی‌آلیل سولفید و گلوکاتیون S- ترانسفران، اسید آسکوربیک و ویتامین E موجود در گیاهان خانواده سوسنیان، علت بهبود شرایط در موش‌های دیابتی باشند و از تجزیه‌ی آلومین سرم و آسیب‌های کلیوی ناشی از استرس اکسیداتیو در این موش‌ها جلوگیری کنند.^{۲۹} این یافته‌ها نشانگر تأثیر عصاره‌ی خرگریو، مشابه دیگر گونه‌های الیوم، بر بهبود شاخص‌های کبدی و کلیوی است. از یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تجویز طولانی مدت عصاره‌ی هیدروالکی خرگریو می‌تواند به صورت وابسته به دوز، میزان آنزیم‌های سرمی AST، ALT، ALP و همچنین BUN را کاهش دهد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده، تجویز خوراکی دوزهای مناسب این عصاره، سبب کاهش اثرات تخریبی کبد و کلیه می‌شود و احتمالاً دارای عملکرد ضد دیابتی است. مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار، اثر عصاره‌ی گیاه خرگریو (Nectaroscordum tripedale) را بررسی کرده است و بخشی از مطالعه‌ای است که پیشتر چاپ شده است.^{۲۶} از

دستگاه گوارش، بیماری‌های مزمن و حاد، شوک، تحلیل عضلانی و برخی بیماری‌های مزمن کبدی و کلیوی افزایش یابد. بر اساس یافته‌های قبلی، القای دیابت باعث افزایش سطوح سرمی اوره می‌شود. افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها همراه با گلوکونئوز و تشکیل اوره در بیماری دیابت دیده می‌شود.^{۱۳،۲۰} در مطالعه‌ی حاضر میزان نیتروژن اوره در گروه‌های دیابتی تحت درمان با عصاره‌ی هیدروالکی خرگریو نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش یافت. یکی از عوارض مهم دیابت، آسیب کلیوی است. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که سلول‌های مزانشیال در وضعیت هیپرگلیسمیک، هیدروژن پراکسیداز و پروتئین کیناز بیشتری تولید کرده و از این طریق، استرس اکسیداتیو در کلیه افزایش می‌یابد و احتمالاً زمینه‌ساز آسیب به کلیه است.^{۲۹} رابطه‌ی مستقیم میان کنترل ضعیف گلوکز خون و عوارض دیگر دیابت، مانند آسیب کلیوی، نشان داده شده است و در مقابل کنترل دقیق گلوکز خون، منجر به تأخیر در بروز عوارض دیابت می‌شود.^{۳۰} کاهش پالایش گلومرولی و کاهش پرفوزیون کلیه‌ها در موش‌های دیابتی باعث افزایش نیتروژن اوره و کراتینین سرم می‌شود.^{۳۱} در این مطالعه، میزان نیتروژن اوره خون در گروه شاهد دیابتی افزایش یافت که این یافته‌ها با توجه به اینکه یکی از عوارض دیابت، آسیب کلیوی است، قابل انتظار است.^{۳۲} نتایج مطالعات نشان داده‌اند که القای دیابت در موش‌های صحرایی باعث افزایش غلظت نیتروژن اوره‌ی خون می‌شود،^{۳۰} به علاوه، مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی موجب کاهش آسیب کلیوی می‌شود.^{۳۳} ال دمداش و همکارانش طی مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که درمان موش‌های دیابتی شده با آلوکسان توسط سیر و پیاز باعث کاهش سطح اوره‌ی پلاسما به میزان ۱۶-۱۴ درصد می‌شود.^{۳۳} در مطالعه‌ی جلودار و همکارانش، درمان موش‌های دیابتی شده با آلوکسان به وسیله سیر، پیاز و شنبلیله باعث کاهش غلظت ازت اوره‌ی سرم شد و در این میان سیر بیشترین تأثیر را داشت.^{۳۴} با توجه به کاهش میزان اوره در موش‌های دیابتی تحت درمان، احتمال دارد آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگریو باعث کاهش و یا جلوگیری از عوارض استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی می‌شود. در این مطالعه، میانگین غلظت آلومین در گروه شاهد دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به دیگر گروه‌ها داشت. از آنجایی که پروتئین و آلومین سرم در بیماری‌های کبدی

سپاسگزاری: این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دانشجویی بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکی گیاه خرگریو بر میزان فاکتورهای بیوشیمیایی سرم موش‌های صحرایی دیابتی است. نویسندگان لازم می‌دانند تشکر خود را از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج و بخش فیزیولوژی دانشکده‌ی دامپزشکی شیراز اعلام دارند.

محدودیت‌های اصلی مطالعه‌ی حاضر، مشخص نبودن دقیق ترکیبات عصاره‌ی گیاه مذکور است. پیشنهاد می‌شود، ترکیبات گیاه و اثر عصاره‌ی گیاه خرگریو بر تغییرات هیستولوژیکی کلیه و کبد در موش‌های صحرایی دیابتی نیز بررسی شود.

References

- Tao Z, Shi A, Zhao J. Epidemiological Perspectives of Diabetes. *Cell Biochem Biophys* 2015.
- Amaral S, Moreno AJ, Santos MS, Seiça R, Ramalho Santos J. Effects of hyperglycemia on sperm and testicular cells of Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated rat models for diabetes. *Theriogenology* 2006; 66: 2056-67.
- Muthulingam M, Mohandoss P, Indra N, Sethupathy S. Antihepatotoxic efficacy of *Indigofera tinctoria* (Linn.) on paracetamol induced liver damage in rats. *Int J Pharm Biomed Res* 2010; 1: 13-8.
- Beladi Mousavi SS, Tavazoe M, Hayati F, Sametzadeh M. Arterio-Venous fistula recirculation in hemodialysis: causes and prevalences. *SEMJ* 2010; 11: 219-24.
- Andrianesis V, Doupis J. The role of kidney in glucose homeostasis-SGLT2 inhibitors, a new approach in diabetes treatment. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2013; 6: 519-39.
- Pandey A, Tripathi P, Pandey R, Srivataava R, Goswami S. Alternative therapies useful in the management of diabetes: A systematic review. *J Pharm Bioallied Sci* 2011; 3: 504-12.
- Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49: 635-9.
- Mohammadi J, Delaviz H, Malekzadeh JM, Roozbehi A. The effect of hydro alcoholic extract of *Juglans regia* leaves in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci* 2012; 25: 407-11.
- Aiston S, Trinh KY, Lange AJ, Newgard CB, Agius L. Glucose- 6-phosphatase over expression lowers glucose 6-phosphate and inhibits glycogen synthesis and glycolysis in hepatocytes without affecting glucokinase translocation. Evidence against feedback inhibition of glucokinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 24559-66.
- Aprioku JS. Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. *J Reprod Infertil* 2013; 14: 158-72.
- Yasin MS, Ferdosi MFH, Nasir F, Shahzad M, Malik A. Effect of Aloe vera gel on lipid profile in alloxan induced diabetic mice. *Mycopath* 2011; 9: 67-70.
- Bayan L, Koulivand PH, Gorji A. Garlic: a review of potential therapeutic effects. *Avicenna J Phytomed* 2014; 4: 1-14.
- Almadal TP, Vilstrup H. Strict insulin therapy normalizes the organic nitrogen contents capacity of urea nitrogen synthesis in experimental diabetes in rats. *Diabetologia* 1988; 31: 114-8.
- Thomson M, Al-Qattan KK, Divya JS, Ali M. Anti-diabetic and anti-oxidant potential of aged garlic extract (AGE) in streptozotocin induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2016; 16: 1-9.
- Banerjee SK, Dinda AK, Manchanda SC, Maulik sk. Chronic garlic administration protects rat heart against oxidative stress induced by ischemic reperfusion injury. *BMC Pharmacol* 2002; 2: 16.
- Berthold HK, Sudhop T, Vonbergmann K. Effect of garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism: A randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 279: 1900-2.
- Mohammadi J, Naik PR. Antidiabetic effects of *Morus alba* in experimentally induced diabetes in Wistar rat. *Biomedicine* 2008; 28: 112-6.
- Liu CT, Wong PL, Lii CK, Hse H, Sheen LY. Antidiabetic effect of garlic oil but not diallyl disulfide in rats with streptozotocin induced diabetes. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1377-84.
- Masjedi F, Gol A, Dabiri SH. preventive effect of garlic (*Allium sativum* L.) on serum biochemical factors and histopathology of pancreas and liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Pharm Res* 2013; 12: 325-38.
- Zare T, Mokhtari M, Mohammadi J. The effect of hydroalcoholic extracts of prangos ferulacea on blood factors of kidney and liver functions in diabetic male Wistar rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2012; 2: 174-80.
- Heidary M, Vafazadeh J, Naghibi B, Mirshamsi M. Evaluation of hepatotoxicity and renal toxicity of methanolic extract of *capparis spinosa* in rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2010; 18: 47- 55.
- Signorini AM, Fondelli C, Renzoni E, Puccetti C, Gragnoli G, Giorgi G. Antioxidant effect of gliclazide, glibenclamide and metformin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Current Therapeutic Research* 2002; 63: 411-20.
- Giacco F, Brownlee M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research* 2010; 107: 1058-70.
- Taheri S, Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Rezaei A, Zaheiri S. Evaluation of the effects of hydroalcoholic extract of *Berberis vulgaris* root on the activity of liver enzymes in male hypercholesterolemic rats. *Avicenna J Phytomed* 2012; 3: 153 - 61.
- Liu CT, Sheen LY, Lii CK. Does garlic has a role as an antidiabetic agent? *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 1353-64.
- Paydar S, Jelodar GA, Mohammadi J. The effect of hydroalcoholic extract of *nectaroscordum tripedale* on biochemical factors in diabetic rats. *Armaghane-danesh* 2015; 20: 404-15.
- Augusti KT. Therapeutic values of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). *Ind J Exp Biol* 2003; 34: 634-40.
- Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Prevention, and Treatment. *Diabetes Care* 2005; 28: 164-76.
- Anjaneyulu M, Chopra K. Nordihydroguaiaretic acid, a lignin, prevents oxidative stress and the development of

- diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology* 2004; 72: 42-5.
30. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 29-38.
31. Coles EH. *Veterinary Clinical Pathology*. 4th ed. WB. Saunders Co. Philadelphia. 1986: 164-6.
32. Thomson M, AL-Qattan KK, Bordia T, Ali M. Including garlic in diet may help lower blood glucose, cholesterol, and triglycerides. *J Nutr* 2006; 136 Suppl 3: S800-2.
33. EL Demerdash FM, Yousef MI, Abou EL-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2005; 43: 57-63.
34. Jelodar GA, Maleki M, Motadayen MH, Sirus S. Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Med Sci* 2005; 59: 64-9.
35. Rasheed Z, Ali R. Reactive oxygen species damaged human serum albumin in patients with type 1 diabetes mellitus: biochemical and immunological studies. *Life Sci* 2006; 79: 2320-8.
36. Sharma B, Siddiqui MS, Ram G, Yadav RK, Kumari A, Sharma G, et al. Rejuvenating of kidney tissues on alloxan induced diabetic mice under the effect of *Momordica charantia*. *Advances in Pharmaceutics* 2014;
37. Tuvemo T, Ewald U, Kobboh M, Proos LA. Serum magnesium and protein concentrations during the first five years of insulin dependent diabetes in children. *Acta Paediatr Suppl* 1997; 418: 7-10.
38. Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. *Asian J Sports Med* 2015; 6: e24898.
39. Wargovich MJ. Diallyl sulfide, a flavor component of garlic (*Allium sativum*), inhibits dimethylhydrazine induced colon cancer. *Carcinogenesis* 1987; 8: 487-9.

Original Article

The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Nectaroscordum Tripedale* on Liver and Kidney Functional Parameters in Streptozotocin-induced Diabetic Male Rats

Paydar S¹, Jelodar Gh¹, Mohammadi J², Mohammadi N³

¹Department of Physiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, & ²Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, & ³School of Dental, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Shiraz, I.R. Iran

e-mail: j_mohammadi2005@yahoo.com

Received: 04/01/2016 Accepted: 26/04/2016

Abstract

Introduction: The reducing effects of some of tripedale family plants on blood glucose, lipids and enzymes have been reported. The aim of the present study was to assess the effects of the hydroalcoholic extract of *Nectaroscordum tripedale* on liver and kidney function in streptozotocin-induced diabetic rats. **Materials and Methods:** Forty male rats were randomly divided into five groups (n=8 each). Groups 1, 3 (normal control and diabetic control) received distilled water, group 2 received 50 mg/kg/day *Nectaroscordum tripedale* extract, and the groups 4 and 5 (treatment groups 1 and 2) received 50 and 100 mg/kg/day of the *Nectaroscordum tripedale* extract respectively for 21 consecutive days. Diabetes was induced by a single injection of streptozotocin in rats. At the end of the 21st day, blood samples were collected by heart puncture. Serum levels of ALP, AST, ALT, Alb, BUN, creatinine and urea were evaluated. **Results:** Results showed that the hydroalcoholic extract of *Nectaroscordum tripedale* can increase the average body weight in the treatments groups. ALP, AST, ALT, BUN levels decreased, whereas level of albumin (Alb) increased in a dose-dependent manner at the end experimental period (P<0.05). **Conclusion:** Our results showed that the extract of *Nectaroscordum tripedale* improved liver and kidney function in a dose dependent manner in experimental conditions.

Keywords: Diabetes Mellitus, *Nectaroscordum tripedale*, Liver, Kidney, Rat