مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی یازدهم، شماره‌ی ۶، صفحه‌های ۷۲۷ ـ ۷۲۱ (اسفند ۱۳۸۸)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر عصاره‌ی اندام‌های هوایی گیاه گزنه بر آزادسازی انسولین و پپتید-C از رده‌ی سلول‌های بتای پانکراس موش صحرایی (RIN5F) و میزان مصرف گلوکز توسط سلول‌های ماهیچه‌ی انسان

مجید مبصری[۱]، دکتر امیر بهرامی[۱]، دکتر نصرت‌اله ضرغامی[۲]، دکتر اکبر علی‌عسگرزاده[۱]، دکتر محمد رحمتی[۲]، دکتر عباس دل‌آذر[۳]، دکتر فرزاد نجفی‌پور[۱]، دکتر میترا نیافر[۱]، دکترناصر آقامحمدزاده[۱]

۱) گروه داخلی، بخش غدد درون‌ریز، دانشکده‌ی پزشکی، ۲) گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، ۳) گروه فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** تبریز، خیابان گلگشت، بیمارستان امام رضا (ع)، بخش غدد درون‌ریز، دکتر امیر بهرامی؛ e-mail:t.u.end.d@tbzmed.ac.ir

چکیده

مقدمه: در بررسی‌های متعدد تأثیر عصاره‌ی الکلی گیاه گزنه در کاهش قند خون نشان داده شده است. این مطالعه با هدف تعیین سازوکار احتمالی تأثیر عصاره‌ی گزنه در کاهش قند خون در سلول‌های ماهیچه‌ی انسان و سلول‌های پانکراس موش صحرایی (RIN5F) انجام شد. مواد و روش‌ها: سلول‌های بتای پانکراس و سلول‌های ماهیچه‌ی انسان در محیط کشت و درون فلاسک‌های متعدد آماده شدند. با تیمار عصاره‌ی الکلی گزنه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم درون فلاسک‌های حاوی سلول‌های ماهیچه و با همین مقادیر تیمار گزنه‌ی توأم با انسولین، درون دسته‌ای دیگر از فلاسک‌های حاوی سلول‌های ماهیچه‌ی انسان، میزان گلوکز فلاسک‌های مورد و شاهد در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ دقیقه سنجش شد. درون فلاسک‌های سلول‌های بتای پانکراس RIN5F نیز دوزهای مورد اشاره از عصاره‌ی گزنه تیمار و در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ دقیقه غلظت انسولین و پپتید-C اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: میانگین گلوکز گروه‌های محیط سلولی ماهیچه‌ی انسان با افزودن عصاره‌ی گزنه به تنهایی و یا با انسولین در مقادیر و زمان‌های ذکر شده تغییر معنی‌دار پیدا نکرد. میزان انسولین در محیط‌های سلولی پانکراس در گروه‌های مختلف گزنه و زمان‌های مختلف میکروگرم بر میلی‌لیتر ۰/۲ و پایین‌تر بود. میزان پپتید-C اندازه‌گیری شده در گروه ۵۰ میکروگرم در فواصل زمانی مورد اشاره ۰/۳۱، ۰/۳۳، ۰/۸۶، ۰/۸ و در گروه ۱۰۰ میکروگرم ۰/۷، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۳۹ و ۲۰۰ میکروگرم ۰/۳۲، ۰/۳۳، ۹۳ /۰ و۰/۷۷ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (تغییر غیر معنی‌دار). نتیجه‌گیری: یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی الکلی گزنه موجب افزایش حساسیت به انسولین در سطح سلول‌های عضلانی و نیز تحریک ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های صحرایی RIN5F نمی‌شود. به نظر نمی‌رسد تأثیر گیاه گزنه در کاهش قندخون از طریق سازوکارهای مورد نظر این مطالعه باشد.

واژگان کلیدی: دیابت، گزنه، کشت سلولی، پپتید-C، انسولین

دریافت مقاله: ۸۸/۲/۲۰ ـ دریافت اصلاحیه: ۸۸/۶/۱۶ ـ پذیرش مقاله: ۸۸/۷/۲۵

مقدمه

دیابت شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز است که بیش از ۱۵۰ میلیون نفر در جهان و نزدیک به ۳ میلیون نفر در ایران به آن مبتلا هستند و موارد قابل توجهی از آن ناشناخته باقی مانده است.[۱] بر اساس اطلاعات به دست آمده، تخمین زده می‌شود که شیوع دیابت در سال ۲۰۲۵ به ۳۰۰ میلیون نفر

برسد.[۲] با توجه به معلولیت‌های ناشی از عوارض مزمن دیابت و بار اقتصادی هنگفت، این بیماری از اهم معضلات بهداشتی ـ درمانی محسوب می‌شود. مطالعه‌ها DCCT[i] و UKPDS[ii] و مطالعه‌های مشابه نشان داده‌اند که کنترل دقیق قندخون تأثیر زیادی بر کاهش عوارض مزمن دیابت دارد.[۳،۴] با توجه به پاتوژنز بیماری و سازوکارهای احتمالی پاتوفیزیولوژیک عوارض مزمن ناشی از آن، کنترل مطلوب و دقیق دیابت بر پایه‌ی تغییر شیوه‌ی زندگی و استفاده‌ی بهینه از داروهایی که چرخه‌های مدل حیوانی و انسانی را گذرانده اند، استوار است.

داروهای گیاهی به طور وسیعی توسط بیماران، بنا بر سنت‌ها و توصیه‌های غیر پزشکی به عنوان مواد پایین‌آورنده‌ی قند خون استفاده می‌شوند. از جمله‌ی این داروها که مورد مصرف آن سابقه‌ی تاریخی طولانی دارد، گیاه گزنه است. گزنه از تیره‌ی علفی است که در نواحی استوایی و گرم کره‌ی زمین پراکندگی دارد. گل‌های این گیاه از خرداد تا شهریور ظاهر می‌شود و ترکیبات شیمیایی آن شامل تانن، موسیلاژ[iii]، فیتوسترین[iv]، نیترات پتاسیم و کلسیم، ترکیبات آهن‌دار، اورتیسین[v]، استوفنون[vi]، اسیداسکوربیک، آلومینیوم، اسید فرمیک، منیزیم، منگنز، سدیم، سرب، نیتروژن جیوه، مس و غیره است. قسمت‌های مورد استفاده‌ی گزنه، گل، برگ، ریشه و ساقه‌ی گیاه است.[۵]

در برخی از مطالعه‌ها اثر کاهنده‌ی قندخون این گیاه نشان داده شده است.[۶،۷] ترکیبات طبیعی متعددی در برگ گیاه گزنه (فلاونوییدها، پپتید و آمین‌ها) وجود دارند، که برخی از آنها اثر ضد دیابتی شناخته شده‌ای دارند.[۸] سازوکارهایی که برای تأثیر ترکیبات فوق بیان شده‌اند عبارتند از تحریک گلیکوژنز، بلوک کانال‌های پتاسیم سلول‌های بتای پانکراس و دخالت در جذب گلوکز از دیواره‌ی روده.[۸]

مطالعه‌های متعددی برای تعیین سازوکارهای احتمالی اثر هیپوگلیسمیک گزنه انجام شده است. فرزامی و همکاران در مطالعه‌ی خود با ایجاد سیستم پرفیوژن، تعداد معینی از جزایر لانگرهانس به دست آمده از موش صحرایی در معرض یک جزء تلخیص شده از عصاره‌ی گزنه قرار دادند. سپس برای ارزیابی پاسخ در محیط زنده، جزء فعال جدا شده را به درون صفاق موش‌های صحرایی طبیعی و دیابتی شده با استرپتوزوتوسین تزریق کردند. اندازه‌گیری قابلیت ترشح انسولین، افزایش قابل توجهی در نمونه‌های دارای جزء تلخیص شده نشان داد. نتیجه‌ی این بررسی حاکی از این است که تأثیر عصاره‌ی برگ گزنه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین مشابه با موش‌های سالم است ولی دامنه‌ی تغییرات نسبت به آنها تا حدودی پایین‌تر بود.[۹] کاوالالی و همکاران نیز در مطالعه‌های خود علاوه بر بررسی تأثیر گزنه در پایین آوردن گلوکز در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین با بررسی هیستوپاتولوژیک پانکراس موش‌های صحرایی، اثر حفاظتی گزنه را بر سلول‌های پانکراس را مطرح کرده‌اند.[۱۰]

نوهام و همکاران در تأیید فعالیت کاهنده‌ی قندخون عصاره‌ی گزنه، عصاره‌ی این گیاه را قبل از مصرف گلوکز به موش‌های صحرایی دیابتی تجویز کردند. یافته‌ها نشان داد که گزنه به طور مشخص دارای اثر پایین‌آورنده‌ی قند خون است. پژوهشگران در آن مطالعه این اثر را با کاهش جذب روده‌ای گلوکز توجیه کردند.[۶]

هدف از مطالعه‌ی حاضر یافتن سازوکارهای احتمالی اثر کاهش‌دهنده‌ی قندخون عصاره‌ی گیاه گزنه بود. در این مطالعه سعی شد به این دو سئوال پاسخ داده شود: ۱- آیا عصاره‌ی این گیاه موجب افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا می‌شود؟ ۲- آیا عصاره‌ی گزنه موجب افزایش اثر محیطی انسولین می‌گردد؟

مواد و روش‌ها

برای تهیه‌ی عصاره‌ی تام اندام‌های هوایی گیاه گزنه (Urtica dioica L) از خانواده‌ی Urticaceae، اندام‌های هوایی گیاه گزنه از بازار خریداری و پس از شناسایی علمی توسط فارماکوگنوزیست با به کارگیری آسیاب برقی به پودر ریز تبدیل شد. پودر حاصل توسط حلال متانول ۷۰ درصد (به

i- Diabetes Control and Complication Trial
ii - United Kindom Perspective Diabetes Study
iii- Mucilage
iv- Fitosterin
v - Urticine
vi - Acetophenone

مدت ۵ روز) به روش خیساندن[i] به دفعات استخراج شد. پس از آن، عصاره‌ی هیدروالکلی حاصل به وسیله‌ی دستگاه Rotary evaporator در دمای ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار زیر ۱۰۰ میلی‌متر جیوه کاملاً خشک شدند. عصاره‌ی تام خشک شده تا هنگام به کارگیری در دمای زیر صفر درجه نگهداری شد.

رده‌های سلولی HT1080 با کد NCBI: C437 و RIN-5F با کد NCBI: C526 از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه و در محیط DMEM و RPMI1640 در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۵٪ CO_2 و آلبومین جنین گاوی ۱۰٪ دارای ۸۰ میلی‌گرم پنی‌سیلین G و ۵۰ میلی‌گرم استرپتومایسین در شرایط استریل کشت داده شدند. بعد از رسیدن به تعداد مشخص مورد نیاز و حالت confluence، تیمار سلول‌ها با عصاره‌ی گزنه و انسولین انجام شد. به طور خلاصه، پروتکل به کار رفته به شرح زیر است:

برای ارزیابی درصد سلول‌های زنده در فلاسک از رنگ تریپان‌بلو استفاده شد. این رنگ فقط سلول‌های زنده را رنگ‌آمیزی می‌کند ولی نمی‌تواند وارد سلول‌های غیر زنده شود، در نتیجه بعد از رنگ‌آمیزی با آن روی لام نئوبار زیر میکروسکوپ نوری تعداد سلول‌های زنده و غیر زنده شمارش و درصد سلول‌های زنده مشخص شد. بر اساس یافته‌های این آزمون، بیش از ۸۵٪ سلول‌ها زنده بودند که از نظر روش و بر اساس رفرانس‌ها مورد قبول است.[۱۱]

سلول‌های بتای پانکراس و ماهیچه‌ی انسان در محیط کشت DMEM1 در آزمایشگاه کشت سلولی مرکز تحقیقات دارویی درون شش فلاسک دارای سلول‌های بتا و شش فلاسک دارای سلول‌های ماهیچه آماده شد. فلاسک سلول‌ها در هر رده فوق در دو گروه مساوی در قالب فلاسک‌های مورد و شاهد انتخاب شدند. قبل از هر مداخله‌ای، درون فلاسک‌های مورد و شاهد سلول‌های ماهیچه‌ای، مقدار گلوکز محتوای فلاسک‌ها اندازه‌گیری شد. درون فلاسک‌های مورد، سلول‌های بتا توسط سوسپانسیون‌های دارای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم عصاره‌ی گزنه در یک میلی‌لیتر نرمال سالین و در فلاسک‌های شاهد سلول‌های بتا فقط یک میلی‌لیتر نرمال سالین تیمار شدند و در پایان، میزان انسولین و پپتید-C در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه در تمام نمونه‌های مورد و شاهد اندازه‌گیری شدند.

هم‌چنین، سوسپانسیون‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم عصاره‌ی گزنه در یک میلی‌لیتر سالین نرمال به فلاسک‌های سلول ماهیچه اضافه شد. بر محتوای جدید فلاسک‌های مورد به میزان یک واحد انسولین رگولار افزوده شد. سرانجام در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه مقادیر گلوکز محتوای تمام فلاسک‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (کیت شرکت پارس آزمون ایران) انجام شد. غلظت انسولین به روش ایمونواسی‌کمولومینسانس (CLIA) بر اساس پروتکل کیت DiaSorin[ii] با محدوده‌ی اندازه‌گیری در محدوده ۵۰۰-۰/۲ میکروواحد بر میلی‌لیتر) و با ضریب تغییرات کمتر از ۱۰٪ تعیین شد. اندازه‌گیری پپتید-C توسط روش ایمونوآنزیمومتریک اسی بر اساس پروتکل اجرایی کیت Monobind[iii] با محدوده‌ی اندازه‌گیر ۳۰-۰/۰۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر) و با ضریب تغییرات کمتر از ۱۰٪ انجام شد.

یافته‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار محاسبه شدند و تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس روش آماری تکرار اندازه‌ها با مدل فرد + زمان + محیط (زمان) + دارو (زمان)[iv] انجام و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۱، میانگین گلوکز در فلاسک‌های دارای سلول‌های ماهیچه‌ی انسان قبل و بعد از افزودن عصاره‌ی الکلی گزنه با غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان داده شده است. با تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده، بین میانگین غلظت گلوکز در فلاسک‌های دارای ماهیچه‌ی انسان قبل و بعد از افزودن عصاره‌ی گزنه در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و

i - Maceration

ii- LIASONInsulin, 310360
iii - AccuBind ELISA Microwells, 2725-300
iv - Repeat measure model

جدول ۱- غلظت گلوکز محیط دارای سلول‌های ماهیچه قبل و بعد از افزودن عصاره‌ی گزنه

زمان (ساعت)	غلظت گلوکز محیط (میلی‌گرم درصد میلی‌لیتر) قبل و بعد از افزودن گزنه		
	(۵۰)	(۱۰۰)	(۲۰۰)
قبل از افزودن	۲۱۲± ۲/۳*	۲۱۲± ۲/۱	۲۰۴± ۲/۳
۶۰ دقیقه بعد	۲۱۰± ۲/۱	۲۱۲± ۲/۳	۲۰۳± ۲/۱
۱۲۰دقیقه بعد	۲۱۶± ۲/۳	۲۱۲± ۲/۳	۲۰۶ ± ۲/۱
۱۸۰دقیقه بعد	۲۱۸± ۲/۹	۲۱۱± ۲/۱	۲۰۸± ۲/۹

* میانگین ± خطای استاندارد

۱۸۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری دیده نشد. هم چنین بین میانگین غلظت‌های گلوکز در محیط‌های دارای عصاره با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. جدول ۲، غلظت گلوکز را در محیط‌های دارای سلول‌های ماهیچه‌ی انسان قبل و بعد از افزودن مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی الکلی گزنه با انسولین در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان می‌دهد.

جدول ۲- غلظت گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) محیط دارای سلول‌های ماهیچه قبل و بعد از افزودن عصاره‌ی گزنه با انسولین

زمان (ساعت)	غلظت گلوکز محیط (میلی‌گرم درصد میلی‌لیتر) قبل و بعد از افزودن گزنه		
	(۵۰)	(۱۰۰)	(۵۰)
قبل از افزودن	۲۰۴ ± ۲/۱*	۲۰۶±۲ /۱	۲۰۲ ±۲/۱
۶۰ دقیقه بعد	۲۱۴±۲/۹	۲۰۸±۲/۳	۲۰۹±۲/۳
۱۲۰دقیقه بعد	۲۱۳±۲/۹	۲۱۰±۲/۳	۲۰۴±۲/۱
۱۸۰دقیقه بعد	۲۱۳±۲/۳	۲۱۱±۲/۹	۲۰۷±۲/۹

* میانگین ± خطای استاندارد

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین غلظت گلوکز در محیط‌های متفاوت عصاره‌ی گزنه با انسولین تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. هم‌چنین، با مقایسه‌ی غلظت‌های گلوکز در حضور غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی گزنه، در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۳، غلظت انسولین محیط کشت سلول‌های بتا را در گروه شاهد قبل و بعد از افزودن عصاره‌ی گزنه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های قبل، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه و غلظت‌های انسولین گروه شاهد در زمان‌های مذکور نشان می‌دهد. تغییر معنی‌دار در میزان انسولین در تمام گروه‌ها با و بدون عصاره‌ی گزنه در زمان‌های متفاوت وجود ندارد.

جدول ۴، غلظت پپتید-C در محیط‌های دارای سلول‌های بتای پانکراس قبل و بعد از افزودن عصاره‌ی الکلی گزنه به میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های قبل، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه را نشان می‌دهد. بین غلظت پپتید-C در زمان‌های متفاوت در هر گروه عصاره‌ی گزنه، از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. بین غلظت‌های پپتید-C محیط‌های متفاوت عصاره‌ی گزنه نیز تفاوت معنی‌داری یافت نشد. بین غلظت‌های پپتید-C گروه‌های محیط کشت دارای عصاره‌ی گزنه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۳- غلظت انسولین محیط کشت سلول‌های بتا در گروه شاهد قبل و بعد از افزودن عصاره گزنه با دوزهای مختلف

زمان (ساعت)	غلظت انسولین (میکروواحد بر میلی‌لیتر) در محیط دارای گزنه (میکروگرم بر میلی‌لیتر)			
	در گروه شاهد	(۵۰)	(۱۰۰)	(۲۰۰)
قبل از افزودن	*۰/۱۶ ± ۰/۰	۱/۰۰ ± ۰/۰۲	۰/۱۸ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰
۶۰ دقیقه بعد	۰/۱۶ ± ۰/۰	۰/۱۹ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰
۱۲۰ دقیقه بعد	۰/۱۶ ± ۰/۰	۰/۱۸ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰
۱۸۰ دقیقه بعد	۰/۱۷ ± ۰/۰	۰/۱۹ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰	۰/۲۰ ± ۰/۰

* میانگین ± خطای استاندارد

جدول ۴- غلظت پپتید-C (نانوگرم بر دسی‌لیتر) در محیط کشت سلول‌های بتا قبل و بعد از افزودن با دوزهای مختلف

زمان (ساعت)	غلظت پپتید –C (نانوگرم بر دسی‌لیتر) در محیط حاوی گزنه			
	در گروه شاهد	(۵۰)	(۱۰۰)	(۲۰۰)
قبل از افزودن	†۰/۷۶±۰/۰۳	۰/۳۱± ۰/۰۱	۰/۷۰±۰/۰۲	۰/۳۲± ۰/۰۱
۶۰ دقیقه بعد	۰/۵۰± ۰/۰۱	۰/۳۳± ۰/۰۱	۰/۲۰± ۰/۰۲	۰/۳۳± ۰/۰۲
۱۲۰ دقیقه بعد	۰/۶۰± ۰/۰۱	۰/۸۶± ۰/۰۳	۰/۴۰± ۰/۰۱	۰/۹۳± ۰/۰۴
۱۸۰ دقیقه بعد	۰/۳۶± ۰/۰۱	۰/۸۰± ۰/۰۳	۰/۳۹± ۰/۰۱	۰/۷۷± ۰/۰۴

* میانگین ± خطای استاندارد

بحث

از سال‌ها قبل، داروهای سنتی به طور گسترده برای درمان بیماری‌های گوناگون استفاده شده‌اند. از جمله‌ی این داروها می‌توان به گیاه گزنه اشاره کرد که در درمان بیماران دیابتی توصیه شده است. مطالعه‌های متعددی در مورد اثر کاهنده‌ی قندخون این گیاه انجام شده است، هر چند در مطالعه‌ی سوانستون و همکاران، اثر افزایش دهنده‌ی قندخون نیز برای این گیاه گزارش شده است.[۱۲] در بیشتر مطالعه‌ها در نمونه‌های حیوانی، گزنه به صورت خوراکی یا داخل صفاقی (عصاره‌ی آن) به حیوانات دیابتی و سالم تجویز شده است. در مورد سازوکار اثر کاهنده‌ی قندخون گیاه گزنه نظرات گوناگونی مطرح شده است، ولی اینکه این اثر کاهنده‌ی قند خون توسط گزنه ناشی از تحریک ترشح انسولین، افزایش حساسیت به انسولین در بافت‌های محیطی یا مهار گلوکونئوژنز اختلال در جذب روده‌ای گلوکز می‌باشد، تاکنون روشن نشده است.

برای یافتن سازوکار احتمالی، چندین مطالعه انجام شده و یافته‌های متفاوتی به دست آمده است. مطالعه‌ی حاضر با هدف یافتن سازوکار احتمالی کاهش قندخون توسط گزنه انجام شد و هدف از آن بررسی اثر عصاره‌ی گزنه به عنوان یک افزایش‌دهنده‌ی حساسیت به انسولین[i] در محیط و یا محرک ترشح انسولین از سلول‌های بتا بود.

از یافته‌های به دست آمده چنین استنباط می‌شود که اضافه کردن عصاره‌ی گزنه به محیط سلول‌های ماهیچه‌ی انسان با مقادیر۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در فواصل زمانی مختلف موجب کاهش در میزان گلوکز محیط نمی‌شود. از سوی دیگر، حضور غلظت‌های ذکر شده‌ی گزنه و انسولین در محیط‌های دارای سلولی ماهیچه در زمان‌های مختلف تغییری در غلظت گلوکز ایجاد نمی‌کند.

با توجه به عدم کاهش گلوکز محیط در حضور گزنه و انسولین، می‌توان نتیجه گرفت که گزنه احتمالاً به عنوان ماده‌ی افزایش دهنده‌ی مقاومت به انسولین عمل کرده است.

i - Insulin sensitizer

مطالعه‌ی فتحی آزاد و همکاران با تعیین اندازه‌گیری قند خون در موش‌های سالم در زمان‌های مختلف پس از تجویز خوراکی عصاره‌ی گزنه به میزان ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم و هم‌چنین، تزریق داخل صفاقی عصاره با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم نشان داد که گزنه نه تنها اثر کاهش‌دهنده‌ی قند خون در موش‌های سالم را ندارد، بلکه موجب افزایش قند خون در زمان‌های اول پس از تزریق عصاره نیز می‌شود. بررسی‌های فوق در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، به صورت وابسته به دوز موجب کاهش قابل ملاحظه‌ای در قند شد.[۸]

در مطالعه‌ی نورابی و همکاران نیز در مورد تأثیر عصاره‌ی آبی برگ گزنه بر قند خون در حیوانات سالم به مدت چهار ساعت تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.[۱۳] به نظر می‌رسد یافته‌های مطالعه‌ی فتحی‌آزاد و نورابی در حیوانات سالم با مشاهده‌ی عدم پاسخگویی در مطالعه‌ی ما که در سلول‌های ماهیچه سالم انسان انجام شده است، هم‌خوانی دارد.

عدم کاهش گلوکز در محیط سلول‌های ماهیچه‌ی انسان، در حضور گزنه با وجود ترکیبات شیمیایی فلاونوییدها، پپتید و آمین‌ها و کومارین و یون‌های معدنی در ساختمان گزنه که اثر کاهش‌دهنده‌ی قند خون آنها ثابت شده است،[۸] این احتمال را مطرح می‌سازد که مواد دیگری در ساختمان گزنه وجود دارند که با اثر کاهش‌دهنده‌ی قند خون مقابله و احتمالاً در حضور انسولین از انتقال گلوکز به داخل سلول ممانعت می‌کنند.

در قسمت دوم مطالعه، اضافه کردن گزنه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محیط سلول‌های RIN5F در زمان‌های متعدد هیچ افزایشی در غلظت انسولین دیده نشد. در اندازه‌گیری پپتید-C مشاهده شد که باوجود تمایل به افزایش در محیط‌های سلولی دارای دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی الکلی گزنه در بعضی زمان‌های مورد سنجش و مقایسه تمام گروه‌ها با گروه شاهد، تفاوت مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نبودند.

یافته‌های بعضی از مطالعه‌ها با یافته‌های پژوهش حاضر مغایرت دارند به طور مثال، یافته‌های تحقیقات فرزامی و همکاران حاکی از افزایش ۵ برابر در ترشح انسولین در سلول‌های پانکراس توسط فراکسیون عصاره‌ی گزنه است.[۹] در مطالعه‌ی دیگری که نتایج آن در آبان ماه سال ۱۳۸۵ در مطبوعات کشور منتشر شد، پژوهشگران ایرانی اعلام کردند که توانسته‌اند با استخراج، تلخیص و شناسایی فراکسیون مؤثر گزنه، تأثیر این فراکسیون را در افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا نشان‌دهند.[۱۴]

کاوالالی و همکاران نیز برای بررسی عملکرد گزنه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، موش‌های سالم، دیابتی، دیابتی با گزنه و دیابتی با گلی‌پیزاید را به چهار گروه تقسیم نمودند. گلوکز خون در هر چهار گروه اندازه‌گیری شد. غلظت گلوکز در گروه گزنه با دیابت و گروه گلی‌پیزاید با دیابت، کاهش واضحی دیده شد. در بررسی هیستوپاتولوژی چهار گروه، تعداد سلول‌های جزیره‌ای در گروه دیابتی‌ها و گزنه با دیابتی‌ها و دیابتی‌ها با گلی‌پیزاید نسبت به گروه موش‌های سالم کاهش یافته بود. این کاهش در گروه دیابتی نسبت به گروه درمان شده با گزنه و گلی‌پیزاید واضح‌تر و بیشتر بود. پژوهشگران این یافته‌ها را حاکی از این مسأله دانستند که گزنه از تخریب بیشتر سلول‌های پانکراس جلوگیری می‌کند.[۱۰] همان‌طور که مشاهده می‌شود بررسی مطالعه‌های حاضر گزنه را بر سلول‌های پانکراس نشان می‌دهد.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر حاکی از عدم تأثیر عصاره‌ی گزنه در افزایش ترشح انسولین در زمان کوتاه است. این‌که این تأثیر در دراز مدت چگونه خواهد بود با مطالعه‌ی ما قابل پاسخگویی نیست. شاید در صورتی که زمان کافی برای تماس عصاره‌ی گزنه با سلول‌های بتای پانکراس وجود داشته باشد، از طریق تأثیر بر بیان ژنی[i]، احتمالاً اثری متفاوت با آنچه در مطالعه‌ی حاضر به دست آمده است، حاصل شود.

مقدم و همکاران با بررسی اثر کاهش‌دهنده‌ی قند خون توسط عصاره‌ی مجموعه‌ای از داروهای سنتی از جمله برگ گردو، برگ گزنه، شنبلیله، سیر، برگ شاه توت، باباآدم و غیره، کاهش ۳۰-۲۰٪ در قند خون حیوان سالم را ۶ ساعت پس از مصرف این عصاره‌ها نشان دادند.[۱۵] پتلوسکی و همکاران در سال ۲۰۰۱ در موش‌های صحرایی دیابتی شده، عصاره‌ی ترکیبی از گیاهان را که گزنه هم شامل آن‌ها بود به کار بردند. ۱۲۰ دقیقه پس از تجویز این عصاره، قند خون به میزان ۲۰٪ کاهش یافت.[۱۶] نوهام و همکاران در تأیید فعالیت عصاره‌ی گزنه نشان دادند که گزنه به طور مشخص اثر

i-Gen Expression

کاهنده بر قند خون دارد. آنها این اثر را با کاهش جذب روده‌ای گلوکز توجیه کردند.[۶]

با این‌که یافته‌های مطالعه‌ی فعلی عدم تأثیر گزنه را بر سلول‌های ماهیچه به عنوان حساس‌کننده‌ی سلول‌ها به انسولین یا تحریک کننده‌ی ترشح انسولین از سلول‌های β نشان می‌دهد، براساس نتایج حاصل به نظر نمی‌رسد تأثیر کاهنده‌ی قندخون توسط گیاه گزنه از طریق سازوکارهای مورد نظر در این مطالعه باشد. به نظر می‌رسد می‌توان با پژوهش‌های بیشتر با استفاده از انواع عصاره‌ها و یا فراکسیون‌های تخلیص‌شده‌ی گزنه با دوزها و زمان‌های متفاوت با روش‌های جدید و دقیق آزمایشگاهی و تعیین بیان ژنی، یافته‌های تعیین‌کننده‌تری به دست آورد.

References

1. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 1998; 15: 539-53.
2. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care 1998; 21: 1414-31.
3. The diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993; 329: 977-86.
4. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). Lancet 1998; 352: 837-53.
5. Moghiseh Sharafati. Introduction of nettle with scientific name of Urtca Dioica Available from: URL: http: //www. farm. blogfa.com/8411. aspx. [Farsi]
6. Bnouham M, Merhfour FZ, Ziyyat A, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of Urtica dioica. Fitoterapia 2003; 74: 677-81.
7. Román Ramos R, Alarcón-Aguilar F, Lara-Lemus A, Flores-Saenz JL. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. Arch Med Res 1992; 23: 59-64.
8. Garjani A, Fathi Azad F, Maleki N, Ranjdost S. Study of the hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of Urtica dioica in normal and diabetic rats. Pharmaceutical Sciences 2005; 2: 65-69.
9. Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, Majin FJ, Khaghani Sh. 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. J Ethnopharmacol 2003; 89: 47-53.
10. Kavalali G, Tuncel H, Göksel S, Hatemi HH. Hypoglycemic activity of Urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol 2003; 84: 241-5.
11. Pan NY, Hui WS, Tipoe GL, Taylor GW, Leung RY, Lam WK, et al. Inhibition of pyocyanin-potentiated IL-8 release by steroids in bronchial epithelial cells. Respir Med 2006; 100: 1614-22.
12. Swanston-Flatt SK, Day C, Flatt PR, Gould BJ, Bailey CJ. Glycaemic effects of traditional European plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. Diabetes Res 1989; 10: 69-73.
13. Norabi M. Effects of Urtica diocia on rat. [dissertation]. Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences; 2000.
14. Iranian Traditional and Complementary Medicine "Darmangar". 2004, 2005 autumn, Winter; 3 and 4(1). http: //www. darmangaronline.com/Fa/Default. aspx? content =Magazine&articleID=124
15. Mogadam M. Hypoglycemic effects of medicinal plants. [dissertation]. Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences; 1998.
16. Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, Juretic D. Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. J Ethnopharmacol 2001; 75: 181-4.

Original Article

Effect of Total Extract of Urtica Dioica on Insulin and C-Peptide Secretion From Rat (RIN5F) Pancreatic β Cells and Glucose Utilization by Human Muscle Cells

Mobasseri M[1], Bahrami A[1], Zargami N[2], Aliasgarzadeh A[1], Rhmati M[2], Delazar A[3], Najafipoor F[1], Niafar M[1], Agamohmmadzadeh N[1]

[1]Department of Endocrinology, Medical Faculty, [2]Department of Clinical Biochemistry, Drug Applied Research Center, [3]Department of Pharmacognosy, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I. R. Iran

e-mail:t.u.end.d@tbzmed.ac.ir

Received: 10/05/2009 **Accepted**: 17/10/2009

Abstract

Introduction: The hypoglycemic effects of the Uritca Dioica (UD) extract, used for treatment of diabetes mellitus for many centuries, have been documented in several studies. The present study was designed to determine the possible mechanisms of hypoglycemic effects of UD on human muscle cells and RIN5F rat pancreatic β cells. Materials and Methods: In the cell culture laboratory of the Drug Applied Research Center, pancreatic β cells and human muscle cells were prepared in multiple flasks containing culture media. Alcoholic extract of UD at concentrations of 50, 100 and 200 μg/mL were added to muscle cell flasks. The same concentrations of extract plus insulin were added to other muscle cell flasks. Glucose levels were measured in the flasks before and after 60, 120 and 180 minutes after adding of extract. Also the same concentrations of UD were added to flask containing RIN5F rat pancreatic β cells, and insulin and C-peptide level were measured at 0, 60, 120 and 180 minutes. Results: Mean glucose level in the muscle cell media with UD alone and UD plus insulin, at the concentrations and time intervals mentioned, did not change significantly. Insulin levels in pancreatic cells media, before and after applying of UD at different concentrations, and at different times was ≤0. 2 μg/ml. C-peptide (μg/ml) levels in these medias with a dose of 50 μg/ml of UD and at above mentioned times were 0. 31, 0. 33, 0. 86 and 0. 8; at concentration of 100 μg/mL they were 0. 7, 0. 2, 0. 4 and 0. 39, and at concentration of 200 μg/mL were 0. 32, 0. 33, 0. 93, 0. 77 respectively (Nonsignificant changes). Conclusion: The results of the present study showed that alcoholic extract of UD was unable to increase insulin sensitivity in muscle cells and/or increase insulin and C-peptide secretion from RIN5F pancreatic β cells. It seems that hypoglycemic effects of UD were not mediated through the proposed mechanisms of this study.

Keywords: Diabetes Mellitus, Urtica dioica, Culture Media, C-peptide, Insulin