

## بررسی اثر عصاره الکلی دانه شنبلیله بر فعالیت آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر

اکرم عیدی<sup>۱\*</sup>، مریم عیدی<sup>۲</sup>، موسی سوخته<sup>۳</sup>

- ۱- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
  - ۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی
  - ۳- کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
- \* آدرس مکاتبه: تهران، بالاتر از میدان پونک، به طرف حصارک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی  
صندوق پستی: ۴۴۶ - ۱۶۵۳۵، تلفن: ۴-۴۴۸۱۷۱۷۰ (۰۲۱)، شماره: ۴۴۸۱۷۱۷۵ (۰۲۱)  
پست الکترونیک: akram\_eidi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۴/۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۴/۳/۱

### چکیده

مقدمه: دانه گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) غالباً به عنوان ادویه و چاشنی غذایی استفاده می‌شود. همچنین در طب سنتی اثراتی از جمله اثرات مدر، ضد نفخ، ضد اسهال و ضد رماتیسم به آن نسبت داده شده است. هدف: در این مطالعه اثر عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله بر سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز در حیوانات سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت و اثر عصاره گیاه با داروی گلی‌بن‌کلامید مقایسه گردید.

روش بررسی: در تحقیق حاضر، تیمار خوراکی عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله با دوزهای ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز بر حیوانات سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین صورت گرفت. سپس سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرم در آنها ارزیابی گردید. مقایسه‌ای نیز بین تاثیر عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله و داروی متداول گلی‌بن‌کلامید صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج تحقیق حاضر گویای آن است که میزان آنزیم‌های فوق به دلیل آسیب بافت کبدی به صورت معنی‌داری در سرم حیوانات دیابتی افزایش می‌یابد و تیمار عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله در حیوانات دیابتی موجب کاهش معنی‌داری در سطح آنزیم‌های فوق در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی می‌گردد، ولی بر حیوانات سالم تاثیر معنی‌داری ندارد. نتیجه‌گیری: این گیاه به دلیل مهار آسیب کبدی ناشی از دیابت، به عنوان داروی ضد دیابتی پیشنهاد می‌گردد. هر چند جزئیات مکانیسم عمل این گیاه ناشناخته است و مطالعات بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بسیاری جهت تایید اثرات آن مورد نیاز است.

گل‌واژگان: دانه شنبلیله، دیابت، موش صحرایی



## مقدمه

در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها به دنبال می‌آورد [۶]. با توجه به ضایعات متعدد و بعضاً کشنده‌ای که بیماری در افراد دیابتی به جای می‌گذارد، لزوم بررسی راه‌های درمان، تخفیف و پیشگیری از آن بیشتر احساس می‌شود. در حال حاضر، با توجه به مشکلات تهیه و تزریق انسولین و داروهای پایین آورنده قند خون و همچنین با در نظر گرفتن عوارض جانبی داروهای صنعتی توجه محققین به سوی استفاده از داروهای گیاهی جلب گردیده است. استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری دیابت در طب سنتی قدمتی دیرینه دارد ولی تجربیات و نتایج علمی اندکی در مجامع علمی ارایه گردیده است [۷]. در این تحقیق جهت مشخص نمودن اثر دانه گیاه شنبلیله بر بهبود آسیب کبدی ناشی از دیابت، عصاره الکلی دانه گیاه به موش‌های صحرایی نر سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین تیمار و میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز<sup>۱</sup> و آسپاراتات آمینو ترانسفراز<sup>۲</sup> سرم در حیوانات سنجش گردیده. آنگاه مقایسه‌ای نیز بین تاثیر عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله و داروی متداول گلی‌بن‌کلامید بر فعالیت آنزیم‌های فوق صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری و شناسایی گیاه

دانه گیاه شنبلیله از منطقه کرج جمع‌آوری شد و شناسایی تاگزونومیکی آن در هرباریوم دانشگاه تربیت معلم تهران انجام گرفت. دانه‌های گیاه در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شده و توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری گردید.

### آماده‌سازی عصاره

پودر دانه گیاه شنبلیله با اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل در دستگاه سوکسله<sup>۳</sup> قرار داده شد و عصاره به دست آمده توسط دستگاه روتاری<sup>۴</sup> خشک گردید.

شنبليله<sup>۱</sup> گیاهی علفی از خانواده بقولات<sup>۲</sup> دارای دانه‌های قهوه‌ای یا قرمز مایل به زرد تا خاکستری به طول ۳-۵ می‌باشد [۱]. از دانه این گیاه به عنوان ادویه و از برگ آن به عنوان سبزی استفاده می‌نمایند. دانه گیاه شنبلیله دارای اثرات مختلفی از جمله کاهش‌دهنده چربی سرم، ضد دیابت، مدر، ضدنفخ، ضداسهال و ضدرماتیسم است [۲،۳،۴]. شنبلیله در سطوح وسیعی در کشورهای مراکش، اتیوپی، تونس، مصر، الجزایر و هند کشت می‌شود. شنبلیله در نواحی مختلف ایران پرورش می‌یابد و از سبزی‌های مفیدی است که در تهیه اغذیه مورد استفاده قرار می‌گیرد. به علاوه به حالت خودرو در نواحی مختلف آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان و نواحی مرکزی ایران (سمنان و دامغان) نیز می‌روید. تاکنون ۷۰ گونه متعلق به جنس *Trigonella* L. شناسایی شده است که شامل گیاهان یک تا چند ساله می‌باشند. ارتفاع شنبلیله متفاوت است و به شرایط اقلیمی محلی رویش گیاه بستگی داشته و بین ۴۰ تا ۶۰ سانتی‌متر می‌باشد. ساقه گیاه دارای انشعاب‌های متعددی است. برگ‌ها سه‌تایی و طول آن یک تا چهار سانتی‌متر است. دمبرگ به طول یک تا سه سانتی‌متر و کم و بیش کرک‌دار است. گل‌های شنبلیله دوجنسی سفید، زرد و به ندرت بنفش‌رنگ هستند. میوه شنبلیله غلاف‌دار به طول ۱۰ تا ۱۲ سانتی‌متر و پهنای آن ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر است. تعدادی دانه در داخل میوه قرار دارد. طول دانه به چهار تا پنج میلی‌متر می‌رسد. دانه‌ها بسیار محکم و در طول آن یک شیار کم و بیش عمیق وجود دارد. دانه شنبلیله در تاریکی جوانه می‌زند و تا یک الی دو سال از قوه رویشی مناسبی برخوردار است [۱].

دیابت بیماری مزمن، مادام‌العمر و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون ریز است که در بیشتر موارد به علت کاهش ترشح انسولین توسط سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده ایجاد می‌گردد [۵]. این بیماری با تغییرات مشخصی در متابولیسم درون سلولی در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد، کلیه و عروق خونی همراه است و همچنین اختلال وسیعی را

<sup>1</sup> Alanine aminotransferase/ALT

<sup>2</sup> Aspartate aminotranferase/AST

<sup>3</sup> Suxhlet

<sup>4</sup> Rotary

<sup>1</sup> *Trigonella foenum-graecum* L.

<sup>2</sup> Papilionaceae



## حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار<sup>۱</sup> با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط مناسب آزمایشگاهی با درجه حرارت کنترل شده  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی هوا بین ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند.

## آماده سازی حیوانات دیابتی

استرپتوزوتوسین (Pharmacia & Upjohn, USA) بلافاصله پیش از انجام آزمایش در سالین استریل حل شده به طور درون صفاقی در دوز ۶۰ mg/kg تزریق گردید. علائم دیابت شامل کاهش وزن، پرنوشی و پرادراری پس از گذشت ۵-۷ روز آشکار گردید. جهت اطمینان بیشتر، میزان قند خون حیوانات از طریق خون‌گیری از سینوس رترواریتال از گوشه داخلی چشم اندازه‌گیری شد که افزایش قند خون به میزان بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نشان‌دهنده دیابتی شدن حیوانات بود [۸،۹].

## نحوه تیمار

عصاره گیاهی در دوزهای مختلف، داروی گلی‌بن‌کلامید و آب مقطر به صورت خوراکی از طریق لوله intragastric روزانه تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۱ میلی‌لیتر و مدت زمان تیمار ۱۴ روز بود. حیوانات به ۹ گروه تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بود. گروه ۱: حیوانات سالم که با آب مقطر تیمار شدند. گروه‌های ۲، ۳، ۴: حیوانات سالم که عصاره گیاهی را با دوزهای ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. گروه ۵: حیوانات دیابتی که با آب مقطر تیمار شدند. گروه‌های ۶، ۷، ۸: حیوانات دیابتی که عصاره گیاهی را با دوزهای ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. گروه ۹: حیوانات دیابتی که داروی گلی‌بن‌کلامید را با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

## جمع‌آوری نمونه‌های خون و روش‌های بیوشیمیایی

پس از گذشت ۱۴ روز، حیوانات با اتر بیهوش شده و نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بلافاصله سانتریفوژ شده و سرم آنها به دست آمد. میزان آنزیم‌های ALT و AST سرم اندازه‌گیری گردید [۱۰].

## آنالیز آماری داده‌ها

اثر تیمار خوراکی عصاره و داروی گلی‌بن‌کلامید در تمامی تجربیات با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۱</sup> و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. نتایج به صورت  $Mean \pm S.E.M.$  ارائه شدند. ملاک استنتاج آماری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

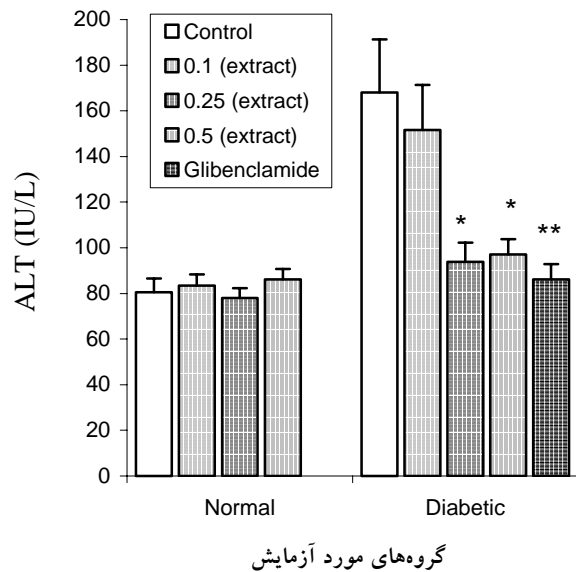
## نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان آنزیم ALT سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم افزایش می‌یابد ( $p < 0/001$ ). داروی گلی‌بن‌کلامید ( $p < 0/01$ ) و عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله با دوز ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم ALT سرم در موش‌های دیابتی شده ایجاد می‌نمایند ( $p < 0/05$ ) (نمودار شماره ۱). همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان آنزیم AST سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم افزایش می‌یابد ( $p < 0/001$ ). عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله با دوز ۰/۲۵ و ۰/۵ ( $p < 0/01$ ) و ۰/۵ ( $p < 0/05$ ) گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم AST سرم در موش‌های دیابتی شده ایجاد می‌نمایند. به طوری که عصاره گیاهی به صورت معنی‌داری موثرتر از داروی گلی‌بن‌کلامید در کاهش میزان آنزیم AST در موش‌های دیابتی شده عمل می‌نماید (نمودار شماره ۲).

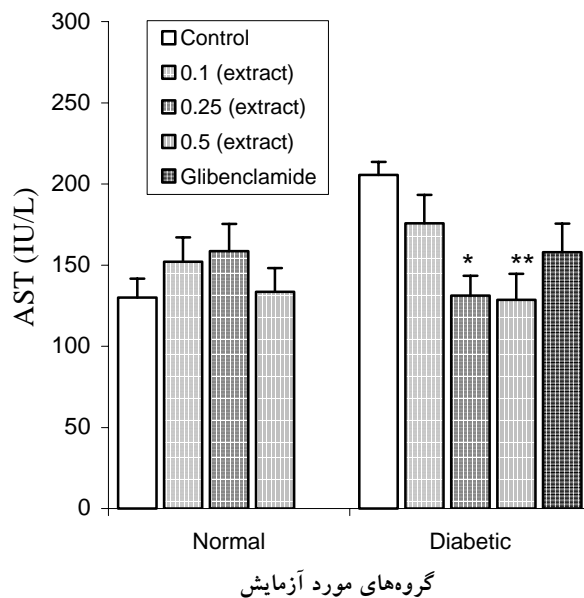
<sup>1</sup> One-way ANOVA

<sup>1</sup> Wistar





نمودار شماره ۱- اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی دانه گیاه شنبليله (غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر میزان آنزیم ALT سرم در موش‌های صحرايي سالم و ديابتي شده توسط داروي استرپتوزوتوسين. اثر داروي گلي‌بن‌کلاميډ نيز در موش‌های ديابتي شده بررسی شده است. حيوانات کنترل آب مقطر دریافت نموده‌اند. هر ستون، Mean ± S.E.M را نشان می‌دهد. \*  $p < 0.05$  و \*\*  $p < 0.01$  اختلاف میزان آنزیم ALT را از گروه کنترل ديابتي نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۲- اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی دانه گیاه شنبليله (غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر میزان آنزیم AST سرم در موش‌های صحرايي سالم و ديابتي شده توسط داروي استرپتوزوتوسين. اثر داروي گلي‌بن‌کلاميډ نيز در موش‌های ديابتي شده بررسی شده است. حيوانات کنترل آب مقطر دریافت نموده‌اند. هر ستون، Mean ± S.E.M را نشان می‌دهد. \*  $p < 0.05$  و \*\*  $p < 0.01$  اختلاف میزان آنزیم AST را از گروه کنترل ديابتي نشان می‌دهد.

## بحث

مبتلایان به بیماری دیابت افزایش می‌یابد.

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان آنزیم‌های AST و ALT سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با رت‌های سالم افزایش می‌یابد. بافت کبد در حیوانات دیابتی نکروزه می‌گردد و احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌ها در نتیجه نشت آنها از سیتوزول کبدی به داخل جریان خون می‌باشد و همچنین عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله موجب کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های فوق می‌گردد. کاهش چنین فعالیت‌هایی احتمالاً در نتیجه مهار آسیب کبدی القا شده توسط استرپتوزوتوسین می‌باشد [۱۴، ۱۵]. احتمالاً عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله با کاهش آسیب در سلول‌های کبدی و همچنین با کاهش سطح لیپیدهای کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب باعث کاهش سطح آنزیم‌های ALT و AST در پلاسما می‌گردد.

بر طبق نتایج تحقیق حاضر عصاره الکلی دانه شنبلیله به صورت موثری در کاهش آسیب کبدی ناشی از دیابت عمل می‌نماید، لذا می‌توان عصاره این گیاه را به عنوان داروی ضد دیابتی در نظر گرفت. هر چند تحقیق‌های بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید جهت استفاده از آن مد نظر قرار داد.

دیابت احتمالاً سریع‌ترین بیماری متابولیکی در حال رشد در دنیا می‌باشد و مطالعات بر روی این بیماری جهت یافتن روش‌های درمانی مناسب‌تر نیز رو به افزایش است [۱۱]. طب گیاهی در سرتاسر دنیا برای محدوده‌ای از افراد مبتلا به دیابت کاربرد دارد. مطالعه گیاهان دارویی کلید طبیعی را برای باز کردن مشکلات درمانی این بیماری ارائه می‌نماید.

کبد یکی از اندام‌هایی است که در بیماری دیابت دچار آسیب می‌گردد. آنزیم‌های AST و ALT به مقدار فراوان در کبد وجود دارند و با آسیب سلول‌های کبدی میزان این آنزیم‌ها در خون بالا می‌رود. این آنزیم‌ها در ارزیابی اختلالات کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. افزایش در فعالیت آنزیم‌های فوق منعکس کننده آسیب کبد است. اختلالات التهابی سلول‌های کبدی منجر به افزایش حاد در میزان ترانس‌آمینازها می‌گردد [۱۲، ۱۳]. آزادسازی آنزیم به داخل جریان خون در هنگام آسیب یا مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. هر بیماری که باعث افزایش در فعالیت متابولیکی بافت‌های مذکور گردد، موجب افزایش سطح آنزیم‌های فوق در خون می‌شود. میزان آنها در خون همچنین به علت آسیب سلول‌های عضلانی و کبدی در

## منابع

- practice recommendation. *Diabetes Care* 1997; 20 (Suppl. 1): S1-S70.
6. Williams G and Pickup JC. *Handbook of Diabetes*. 2nd ed. Blackwell Science. 2000, pp: 48-60.
7. Gray AM and Flatt PR. Nature's own pharmacy: the diabetes perspective. *Proc. Nutr. Soc.* 1997; 56: 507-517.
8. Babu PS and Srinivasan K. Renal lesions in streptozotocin-induced diabetic rats maintained on onion and capsaicin containing diets. *J. Nutr. Biochem.* 1999; 10: 477 - 483.
9. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Homayounfar H and Hosseini M. Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular

1. معطر فریرز، شمس‌اردکانی محمدرضا. *راهنمای گیاه درمانی*. چاپ اول. فرهنگستان علوم پزشکی ایران. ۱۳۷۸، صفحه ۸۷.
2. Khosla P, Gupta DD and Nagpal RK. Effect of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) on serum lipids in normal and diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 1995; 27: 89-93.
3. Prasanna M. Hypolipidemic effect of Fenugreek: A clinical study. *Indian Journal of Pharmacology*. 2000; 32: 34-36.
4. Chaudhari RD. *Herbal drug industry: a practical approach to industrial pharmacognosy*. Eastern Publishers. New Dehli. 1996.
5. American Diabetes Association. *Clinical*



reactivity of streptozotocin-diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 85: 139 - 144.

**10.** Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-books Verlagsgesellschaft. 1998, pp: 55.

**11.** Baily CJ and Flatt PR. Antidiabetic drugs, new developments. *Indian Biotechnology.* 1986; 6: 139-142.

**12.** Foreston WC, Tedesco FJ, Starnes EC, Shaw CT. Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 1985; 76: 502 - 505.

**13.** Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G and Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand. J. Gastroenterol.* 1986; 21: 109-113.

**14.** Navarro CM, Montilla PM, Martin A, Jimenez J and Utrilla PM. Free radicals scavenger and antiheptotoxic activity of Rosmarinus. *Plant Med.* 1993; 59: 312-314.

**15.** Mansour HA, Newairy A, Yousef MI and Shewita SA. Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats. *Toxicology.* 2002; 170: 221-228.

