

بررسی اثر سیزده گیاه بر فعالیت آرژیناز، کراتین کیناز، آمیلاز و لیپاز در سرم موش صحرایی دیابتی

دکتر مهدی صائب^۱، دکتر غلامعلی جلودار^۱، دکتر ناصر قاندری پور^۱ و دکتر جواد ساجدیانفرد^۱

خلاصه

در این پژوهش اثر ضد دیابتی سیزده نوع گیاه مختلف بر فعالیت آرژیناز، کراتین کیناز، آمیلاز و لیپاز سرم موش های صحرایی دیابتی شده مورد بررسی قرار گرفت. در چهارده گروه پنج تایی دیابت تجربی توسط تزریق درون صفاقی آلوکسان (۱۷۵mg/kg) ایجاد گردید. به سیزده گروه از آنها به مدت ۱۵ روز علاوه بر غذای معمولی روزانه معادل ۶/۲۵٪ وزن بدن، از گیاهان مورد نظر خوراندند. گروه باقیمانده (گروه کنترل مثبت) در تمام طول دوره فقط از غذای معمولی استفاده نمود. علاوه بر گروه های فوق یک گروه پنج تایی سالم نیز به عنوان گروه کنترل منفی انتخاب و با غذای معمولی تغذیه گردید. در پایان دوره پس از خون گیری و تهیه سرم، فعالیت آنزیم های آرژیناز، کراتین کیناز، آمیلاز و لیپاز اندازه گیری شد. بررسی آماری نتایج بدست آمده نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین گروه های کنترل و آزمایش در مورد فعالیت آنزیم های کراتین کیناز و آرژیناز می باشد، ولی در مورد آنزیم آمیلاز، نتایج نشان دهنده کاهش معنی دار این آنزیم در گروه کنترل منفی و افزایش معنی دار آن در گروه هایی که سیر و هویج مصرف نموده اند می باشد ($P < 0/05$). اندازه گیری فعالیت لیپاز نشان دهنده افزایش معنی دار این آنزیم در گروه کنترل مثبت در مقایسه با گروه کنترل منفی و همچنین کاهش معنی دار آن در گروهی که سیر مصرف نموده اند در مقایسه با گروه کنترل مثبت می باشد ($P < 0/05$).

واژه های کلیدی: دیابت، گیاهان دارویی، آمیلاز، کراتین کیناز، لیپاز، آرژیناز، موش صحرایی

۱- اعضاء هیأت علمی بخش های بیوشیمی، فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

۲- دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

مقدمه

دیابت شیرین، اصطلاحی تشخیصی و بالینی می‌باشد که به اختلال سوخت و ساز گلوکز و سایر مواد همراه اطلاق می‌شود. این بیماری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز است و میزان شیوع آن در جوامع بشری ۱-۲٪ می‌باشد (۲۰۲۱). بروز این بیماری با عوارض و عواقب زیاد و گاهی وخیم همراه است که شایعترین آنها قندخون بالا، کیتوز، شوک ناشی از اسمولارته بالا، اغماء و حتی مرگ می‌باشد. همچنین بیماری‌های قلبی عروقی، تصلب شرائین، بیماری‌های کلیوی، چشمی، عصبی و عفونتهای شدید در این بیماران شیوع بیشتری دارد (۲۰۲۱). کاهش وزن و ذخیره کراتین فسفات در بافت‌هایی چون قلب و عضلات تظاهر می‌نماید (۹، ۱۹). از جمله آنزیم‌های مهمی که در ذخیره انرژی شیمیایی به صورت ATP دخالت دارد آنزیم کراتین کیناز است. احتمال می‌رود که تغییر فعالیت این آنزیم در افراد دیابتی نقش مهمی در میزان ذخیره انرژی در بافت‌ها به عهده داشته باشد (۳). کبد به عنوان یک عضو سم‌زدا و تبدیل‌کننده آمونیاک به اوره نقش مهمی دارد که در این واکنش آرژیناز دارای اهمیت ویژه‌ای است (۱۳).

فعالیت آنزیم‌هایی چون لپاز و آمیلاز در سرم افراد دچار پانکراتیت حاد افزایش می‌یابد (۱۱). موادی چون آلوکسان، سلول‌های بتای پانکراس را تخریب کرده و ایجاد دیابت می‌کنند که در این حالت قسمت برون‌ریز پانکراس نیز تحت تأثیر قرار گرفته و سبب تغییر فعالیت در آنزیم آمیلاز و لپاز می‌شود (۱). معمولاً اساس درمان بیماران دیابتی را انسولین و بعضی ترکیبات شیمیایی کاهش دهنده قند خون تشکیل می‌دهد، ولی با توجه به مشکل تهیه و مصرف انسولین و عوارض جانبی ترکیبات مصنوعی و شیمیایی، مطالعات اخیر به سمت یافتن گیاهانی که بعضاً از قدیم در طب سنتی کاربرد داشته و اغلب به سادگی در دسترس بوده و احتمالاً عاری از اثرات جانبی داروهای مرسوم هستند، سوق پیدا کرده است که بعضی از گیاهان مورد نظر در این مطالعه از آن جمله می‌باشند (۴، ۱۰، ۱۷، ۱۸).

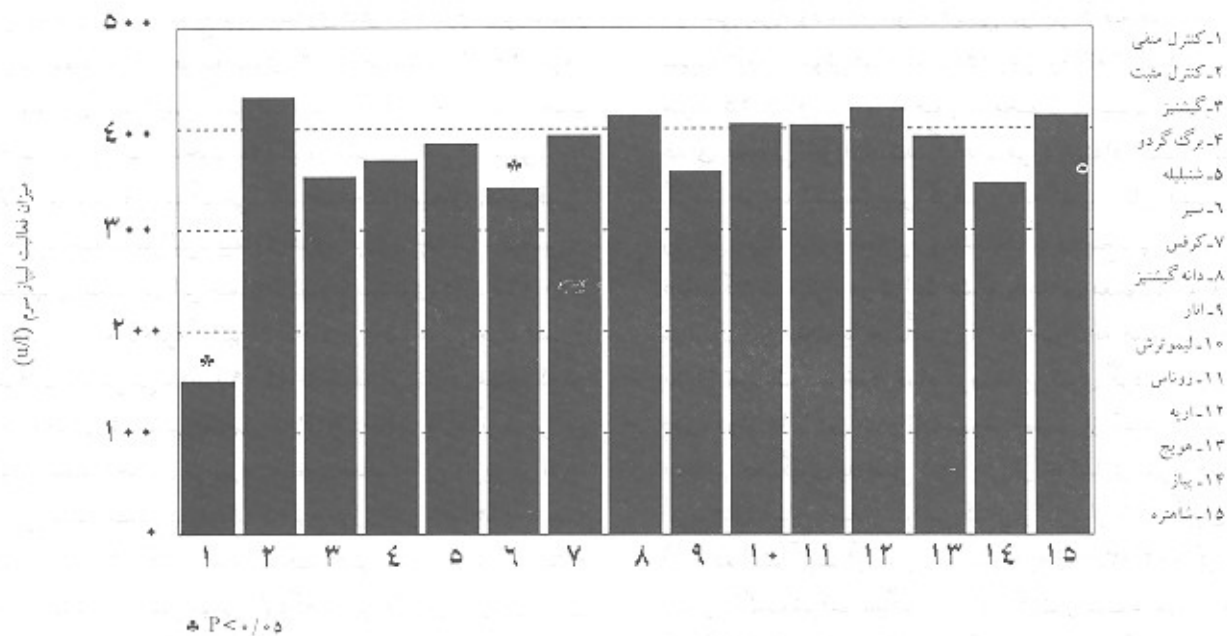
مواد و روش‌ها

تعداد ۷۵ سر موش صحرایی نر سفید از نژاد آلبینو با وزن 270 ± 20 گرم انتخاب گردید. موش‌ها به ۱۵ گروه پنج‌تایی تقسیم شده و در چهارده گروه با تزریق یک نوبت آلوکسان به صورت درون صفاقی (۱۷۵ mg/kg) دیابت ایجاد گردید، ملاک ایجاد دیابت تأیید وجود قند در ادرار با استفاده از نوار ادراری

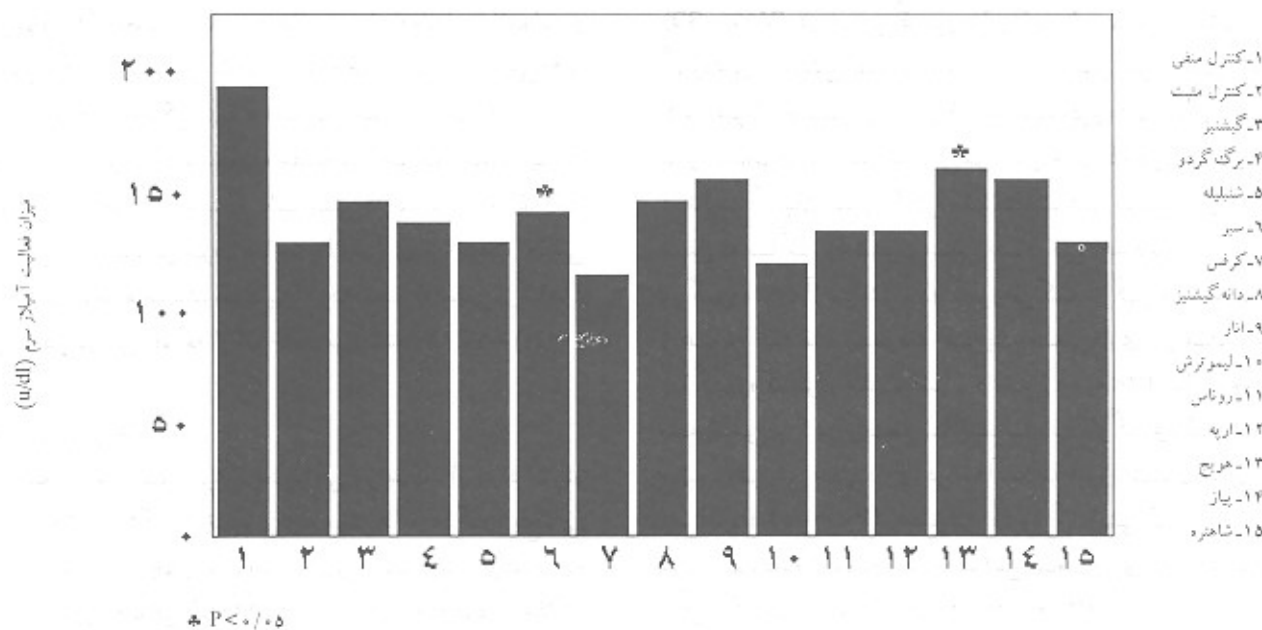
تعیین گلوکز و سپس تعیین قند خون با خون‌گیری از دم موش، یک هفته پس از تزریق آلوکسان بود. موش‌هایی که دارای قند خون بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (مقدار طبیعی ۶۰-۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) بودند به عنوان دیابتی در نظر گرفته می‌شدند. به سیزده گروه از موش‌ها به مدت ۱۵ روز، روزانه از گیاهان زیر به میزان ۶/۲۵٪ وزن بدن به صورت مخلوط با نسبت مساوی با غذای معمولی خوراندند. گیاهان مورد استفاده گشنیز، برگ گردو، هویج، شنبلیله، سیر، کرفس، دانه گشنیز، انار، لیموترش، روناس، ارپه، پیاز و شاهتره بودند. یک گروه پنج‌تایی سالم نیز به عنوان کنترل منفی، در شرایط مشابه با غذای معمولی تغذیه شد. در طول این مدت با خون‌گیری از دم حیوان به صورت روزی یکبار تغییرات قند خون تمام گروه‌ها پی‌گیری گردید. در پایان دوره موش‌ها با دی‌کلرواتان بیهوش، سپس از قلب آنها به طور مستقیم خون‌گیری به عمل آمد. پس از جداسازی سرم، فعالیت آنزیم‌های لپاز، آمیلاز، کراتین کیناز و آرژیناز اندازه‌گیری شد (۱). فعالیت آنزیم آرژیناز با روش اوره (۱۲، ۱۳، ۱۴)، کراتین کیناز، باکیت شرکت سیگما، آمیلاز باکیت زیست شیمی به روش آمیلوکلاستیک و لپاز باکیت سیگما تعیین مقدار گردیدند. نتایج حاصله با استفاده از آزمون آماری t-student مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

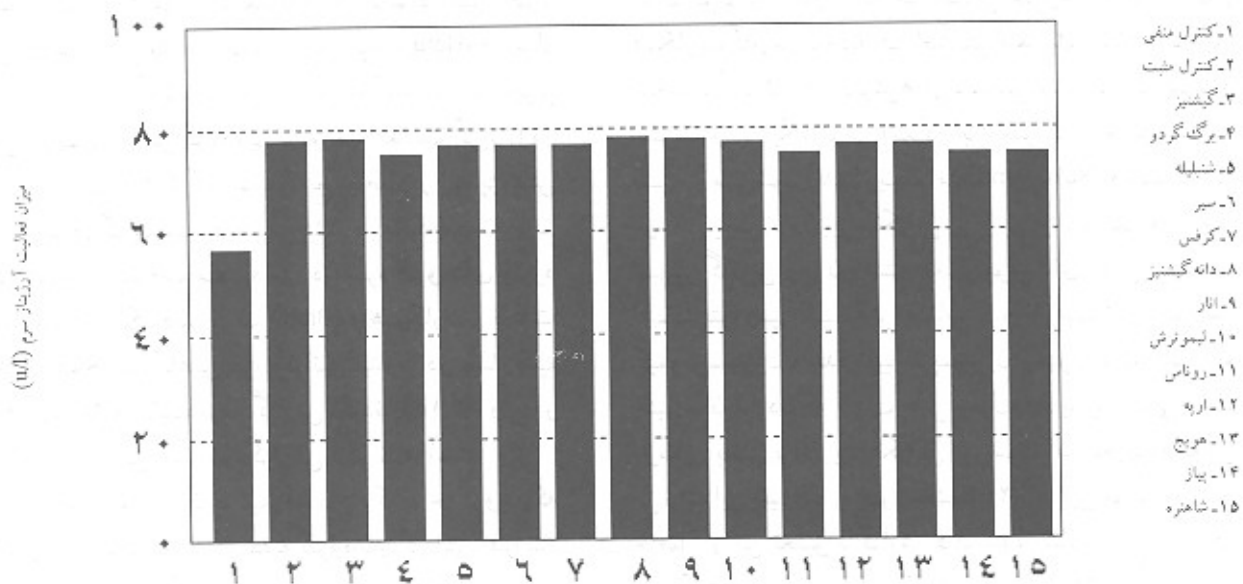
در نمودارهای ۴-۱ میزان فعالیت چهار آنزیم (Mean±SD) در بسین گروه‌های کنترل مثبت، منفی و گروه‌های آزمایشی نشان داده شده است. بر طبق نمودارهای ۳ و ۴ در میزان فعالیت آرژیناز و کراتین کیناز گروه‌های مورد نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. در حالی که در نمودار ۲ فعالیت آمیلاز گروه کنترل مثبت، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل منفی نشان می‌دهد ($P < 0/05$). در گروه‌های آزمایشی، دو گروهی که از گیاهان سیر و هویج استفاده نمودند افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان دادند ($P < 0/05$). با توجه به نمودار ۱ در رابطه با فعالیت لپاز گروه کنترل مثبت افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل منفی نشان داد ($P < 0/05$). همچنین گروه آزمایشی که از گیاه سیر استفاده نموده است کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان می‌دهد ($P < 0/05$).



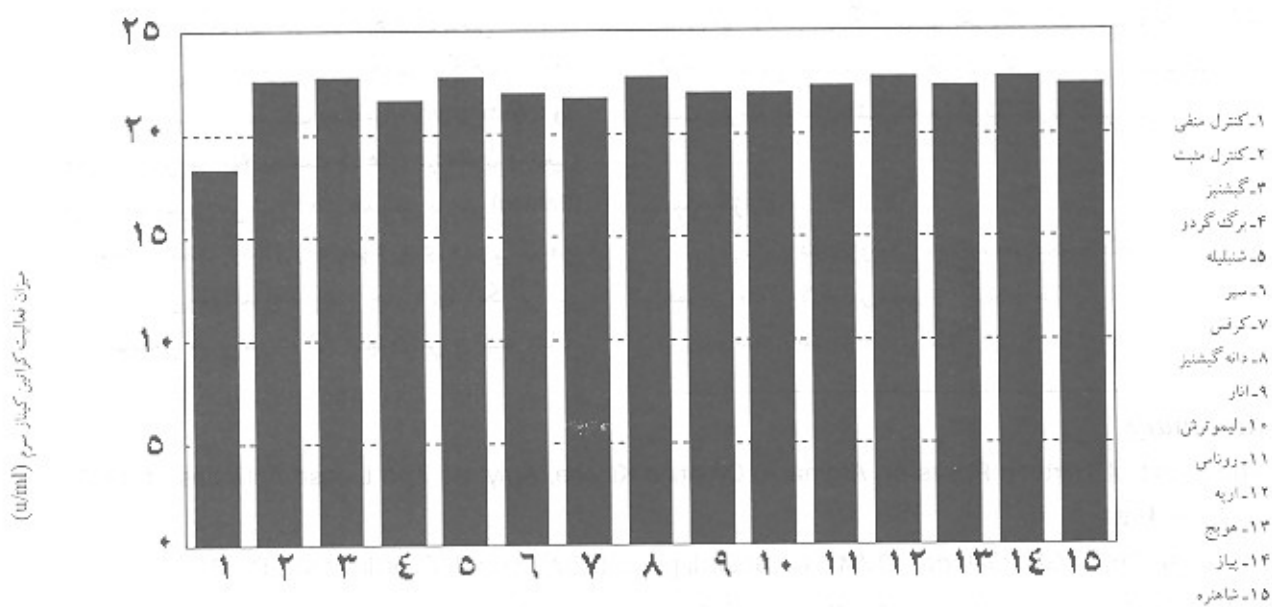
نمودار ۱: میزان فعالیت لیپاز سرم (u/l) در موش‌های دیابتی پس از تغذیه با گیاهان مختلف



نمودار ۲: میزان فعالیت آمیلاز سرم (u/dl) در موش‌های دیابتی، پس از تغذیه با گیاهان مختلف



نمودار ۳: میزان فعالیت آرزیناز سرم (u/ml) در موش‌های دیابتی، پس از تغذیه با گیاهان مختلف



نمودار ۴: میزان فعالیت کراتین سرم (u/ml) در موش‌های دیابتی، پس از تغذیه با گیاهان مختلف

بحث

بررسی نتایج بدست آمده نشانگر عدم تغییر معنی داری در فعالیت آنزیم آرژیناز سرم گروه‌های مورد آزمایش و کنترل می‌باشد. تاکنون نیز در مورد تغییرات این آنزیم در سرم افراد دیابتی گزارشی ذکر نشده است، اما ری‌راپ (Rerup) در سال ۱۹۷۰ اثرات سمی آلوکسان را بر روی کبد و کلیه متعاقب تجویز صفاقی آلوکسان گزارش کرد، ولی عدم تغییر فعالیت آنزیم را در سرم گزارش نمود (۱۶)، که مشابه نتایج حاصل از این پژوهش متعاقب مصرف گیاهان مورد نظر می‌باشد. در مورد فعالیت آنزیم کراتین کیناز نیز تفاوت معنی داری در سرم گروه‌های مورد آزمایش مشاهده نگردید. برت (Brett) و همکاران و نجات (Najat) و همکاران، کاهش میزان کراتین کیناز را در عضله قلب موش‌های مبتلا به دیابت مزمن گزارش نمودند (۳، ۱۵)، ولی در مورد تغییرات کراتین کیناز سرم گزارشی ذکر نشده است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپاز نشان داد که به جز گروهی که سیر مصرف نموده بودند در بقیه گروه‌های دیابتی افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم مشهود است. بررسی فعالیت آمیلاز نشان دهنده کاهش میزان آن در کلیه گروه‌های دیابتی باستانی گروه‌های آزمایشی که با سیر و هویج تغذیه شده‌اند، می‌باشد. دوان و استرن‌بای (Strenby & Duan) در سال ۱۹۹۳ کاهش آنزیم‌های لیپاز، کربوکسیل استر پانکراسی، فسفولیپاز و افزایش لیپاز غدد بزاقی را در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین (ماده دیابت‌زای دیگر) ناشی از فقدان انسولین گزارش نمودند (۸). دوان و همکاران، در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین افزایش لیپاز و تریپسین پانکراس و کاهش آشکار آمیلاز را گزارش نمودند که مصرف آمیرامین (Amiramin) بدون تأثیر بر روی انسولین و آمیلاز باعث کاهش قندخون و تغییر فعالیت لیپاز به حد طبیعی می‌شود (۵). همچنین بارتو (Barneo) و همکاران، کاهش شدید آمیلاز را در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین گزارش نمودند که با پیوند جزیره‌ای پانکراس این تغییرات طبیعی می‌شود (۱). گینگراس و بندایان

(Gingras & Bendayan) در سال ۱۹۸۹ کاهش شدید آمیلاز را در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین گزارش نموده و بیان داشتند که وانادیت (Vanadate) بدون تأثیر بر روی انسولین میزان گلوکز و آمیلاز را به حد طبیعی می‌رساند (۲). دوان و همکاران، گزارش نمودند که افزایش فعالیت لیپاز و کاهش فعالیت آمیلاز در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان و استرپتوزوسین یکسان می‌باشد که این تغییرات با تجویز انسولین طبیعی می‌شود (۶، ۷). یوکویاما (Yokoyama) و همکاران، نارسایی بخش برون‌ریز پانکراس را در بیماران دیابتی وابسته به انسولین گزارش و بیان داشتند که در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین کاهش قابل توجه آمیلاز و افزایش کیموتریپسینوژن و عدم تغییر تریپسینوژن مشهود است. آنها هم چنین بیان نمودند که توقف عمل سلول‌های بتا به تنهایی سبب نارسایی بخش برون‌ریز پانکراس نمی‌شود، اما تجویز انسولین می‌تواند این تغییرات را بهبود بخشد (۲۲). در این مورد نیز نتایج حاصل از این تحقیق با گزارش ذکر شده مشابهت دارد، اما در مورد کاهش فعالیت لیپاز و افزایش فعالیت آمیلاز در گروهی که سیر مصرف نموده‌اند در مقایسه با گروه کنترل مثبت شاید بتوان گفت که این گیاه اثراتی شبیه به وانادیت و آمیرامین دارد، زیرا گزارش شده است که گیاه سیر سبب کاهش قندخون و افزایش فعالیت آمیلاز بدون تأثیر بر روی انسولین می‌شود (۲۳). اما در مورد افزایش فعالیت آمیلاز در گروهی که هویج مصرف نموده‌اند، در مقایسه با گروه کنترل مثبت شاید بتوان گفت که مواد قندی موجود در این گیاه سبب تحریک بخش‌های دیگر و شاید خود پانکراس شده و سبب افزایش فعالیت این آنزیم گردیده است، گرچه عوامل ناشناخته دیگر نیز بدون تأثیر نمی‌باشند.

سپاسگزاری

جا دارد که از شورای پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز به دلیل تخصیص اعتبارات لازم و نیز سرکار خانم پرچهر خاکسار تکمیسین آزمایشگاه فیزیولوژی تشکر و قدردانی به عمل آید.

Summary

The Effect of Thirteen Plants on Arginase, Creatine Kinase, Amylase and Lipase Activities of the Serum in Diabetic Rats

M. Saeb, PhD¹; GH. Gelodar, DVM¹; N. Ghaedi-pour, DVM², and J. Sajedianfard, DVM¹

1. Faculty Member 2. Doctory of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran

Many traditional plants are used for treatment of diabetes throughout the world as adjuncts to conventional therapy. The purpose of this study was to evaluate the effects of thirteen different plants on arginase, creatin kinase, amylase and lipase activities in serum of diabetic rats. Diabetes was induced in 70 adult male albino rats by intraperitoneal injection of 175 mg/kg body weight of alloxan. Rats were divided into 14 groups. Thirteen of which consumed a complex of normal pelletes diet supplemented with the amounts, equal to 6.25% of their weight with different plants including coriander, walnut leaf, fenugreek, garlic, celery, coriander seed, pomegranate, lemon, madder, poly-germander, carrot, onion and fumotory for 15 days. An additional group which was diabetic but received no plant diet, was selected as the positive control, and a healthy group was chosen as the negative control. The enzyme activities of the above sera was measured and the results were as follow. No significant difference in arginase or creatine kinase activities were observed among the negative, positive and experimental groups. Amylase activity was significantly lower in positive control group compared to the negative control. The amylase activity in groups which received garlic and carrot was also significantly higher than the positive control ($P < 0.05$). Lipase activity was significantly increased in the positive control compared to the negative control. This activity was significantly decreased in group which received garlic.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1995; 2(4): 193-199

Key Words: Diabetes, Herbal medicine, Amylase, Creatin kinase, Lipase, Arginase, Rat

References

1. Barneo L, Esterban MM, Garcia Paravia C, Diaz F and Marin B: Islet transplantation restores normal serum amylase level in diabetic rats. *J Eur surg Res* 1990; 22(3): 143-150.
2. Bendayan M and Gingras D: Effect of vanadate administration on blood glucose and insulin levels as well as on the exocrine pancreatic function in streptozotocin diabetic rats. *Diabetologia* 1989; 32(8): 561-567.
3. Brett K, Popvich, Kennech R, Bohler, Wolfgang H and Diallyman. Diabetes decreases creatine kinase enzyme activity and mRNA level in the rat heart. *J Am Physiolog Soc* 1989; 573-577.
4. Chakraverthy BK, Gupta S, Gambhir SS and Gode KD. Pancreatic beta cell regeneration: A novel antidiabetic mechanism of petercarpus marsupium. *Indian J Pharmacol* 1980; 12(2): 123-128.
5. Duan RD, Cheng Y and Erlanson Albertsson C. Effect of emiramine on exocrine and endocrine pancreatic function in normal and diabetic rats. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52(7): 576-584.
6. Duan, RD and Erlanson Albertsson C. Pancreatic lipase and colipase activity increase in pancreatic acinar tissue in diabetic rats. *Pancreas* 1989; 4(3): 329-334.
7. Duan RD, Poensgen J, Wicker C, Westrom B, Erlanson Albertsson C. Increase in pancreatic lipase and trypsin activity and their mRNA levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J Dig Dis Sci* 1989; 34(8): 1243-1248.
8. Duan RD and Sternby B: Decrease in contents of pancreatic carboxylester lipase, phospholipase A-Z and lingual lipase in rats with sterptozotocin induced diabetes. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28(3): 256-260.
9. Harrison S: Principles of Internal Medicine. 9th ed, New York, McGraw-Hill, 1980; pp1493-1514, 1741-1755.
10. Henquin JC and Lambert AE. Cobalt inhibition of insulin secretion and calcium uptake by isolated rat islets. *Am J Physiol* 1975; 228(6): 1669-1677.

11. Kaldor G: Clinical Enzymology Methods in Laboratory Medicine. Vol 3. New York, Praeger Publishers, 1983; pp113-128.
12. Maning RT and Grisolia: Serum arginase activity. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 95: 225-226.
13. Mellerup B. Colorimetric method for rapid determination of serum arginase. *Clin Chem* 1976; 13: 900-908.
14. Mia AS and Koger HD: Direct colorimetric determination of serum arginase in various domestic animals. *Am J Vet Res* 1978; 39(8): 1381-1383.
15. Najat M, Suzanne RM, Gilles T and Andre N. Partial correction of impaired creatine kinase activity in diabetic rat heart by physical training metabolism. 1992; 41(9): 1004-1008.
16. Rerup CC: Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol Review*. 1970; 22(4): 485-518.
17. Shanmugasudaram ER, Gopinath KL, Randha SK and Rajendran VM: Possible regeneration of the islets of Langerhans in streptozotocin induced diabetic rats given gymnema sylvestre leaf extract. *J Ethnopharmacol* 1970; 30(3): 265-279.
18. Swanson Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR: Traditional plant treatments for diabetes studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia* 1990; 33(8): 462-464.
19. Teitz NW: Textbook of clinical chemistry. CP. Philadelphia, W.B. Saunders, 1986; pp725-740, 707-802.
20. Williams SK, Devenny JJ and Bitensky MW. Micropinocytic ingestion of glycosylated albumin by isolated microvessels: possible role in pathogenesis of diabetic microangiopathy. *Proc Nat Acad Sci-USA*, 1981; 78(4): 2393-2397.
21. Wyngaarden and Smith-Cecil: Textbook of Medicine 16th ed, 1982; pp1053-1071, 1195-1198.
22. Yokoyama J, Mori Y, Ikeda Y, Nishimura M and Mullen Y: Influence of β cell impairment on pancreatic acini in nude mice and streptozotocin induced diabetic rats. *Endocrinol* 1988; 35(4): 549-556.
23. Youness RI: The hypoglycemic effect of some commonly used plants and seeds. *Zoological Society of Egypt Bulletin* 1985; 35: pp121-128.