مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره چهار، تیر ۱۳۹۷

تاریخ دریافت:۱۳۹۶/۳/۱۷
تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۸/۱۱

ارزیابی اثرات ضد دیابتی و محافظت کبدی عصاره آبی برگ گیاه استویا(*Stevia rebaudiana*)(قسمت شیرین) در موش سوری دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

محمد مهدی زنگنه[۱]، نادر گودرزی*[۲]، اکرم زنگنه[۱]

مقاله پژوهشی

مقدمه: گیاه استویا ربادیانا، اخیراً به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانت، ضد التهاب و ضد میکروب شناخته شده است. در مطالعه حاضر، خصوصیات حفاظت کبدی و ضد دیابتی عصاره آبی بخش شیرین گیاه استویا ربادیانا در موش های سوری نر دیابتی ارزیابی شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، دیابت با تزریق داخل صفاقی ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین در ۲۸ موش سوری نر بالغ القاء شد و موش ها به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. یک گروه هم به عنوان کنترل منفی سالم در نظر گرفته شد. گروه های کنترل منفی سالم و کنترل منفی دیابتی (تیمار نشده) نرمال سالین و گروه های تیمار به ترتیب ۰/۵ mg/kg گلی بنکلامید و ۲۰۰µg/kg و ۴۰۰ µg/kg عصاره آبی استویا ربادیانا را به مدت ۱۵ روز دریافت کردند. در روز پایانی، سطوح سرمی گلوکز خون و آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اندازه گیری شد و تغییرات ساختاری بافت کبد مورد بررسی استرویولوژیکی قرار گرفت. داده ها با آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن به کمک نرم افزار SPSS 22 تحلیل شد.

نتایج: سطوح گلوکز خون و آنزیم های ALT و ALP در گروه های تیمار شده با عصاره آبی استویا ربادیانا نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنی دار داشت ($P<۰/۰۵$). حجم کبد، هپاتوسیت ها، سینوزوئیدها، سیاهرگ مرکزی و سرخرگ کبدی پس از درمان با دوز بالای عصاره استویا ربادیانا نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنادار داشت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد عصاره شیرین گیاه استویا ربادیانا می تواند با تنظیم سطح سرمی گلوکز و آنزیم های کبدی از تخریب بافت کبد در موش های دیابتی پیشگیری نماید.

واژه‌های کلیدی: استویا ربادیانا، استرپتوزوتوسین، دیابت، کبد، موش سوری

ارجاع: زنگنه محمد مهدی ، گودرزی نادر، زنگنه اکرم . **ارزیابی اثرات ضد دیابتی و محافظت کبدی عصاره آبی برگ گیاه استویا(*Stevia rebaudiana*)(قسمت شیرین) در موش سوری دیابتی شده با استرپتوزوتوسین**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۴): ۲۹-۳۱۹.

۱- دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲- استادیار، گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
*(نویسنده مسئول)؛تلفن: ۰۹۱۱۲۳۸۸۳۴۰ ، پست الکترونیکی: n.goodarzi@razi.ac.ir: کد پستی: ۶۷۱۵۶۸۵۴۱۴

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

مقدمه

دیابت اختلال مزمنی در متابولیسم پروتئین ها، چربی ها و کربوهیدرات بوده و سبب می شود که در تبدیل این ترکیبات به انرژی عدم تعادل ایجاد شود (۱). این بیماری به دلیل نقص در تولید هورمون انسولین به وجود می آید (۲). در این بیماری علاوه بر این که قندخون به صورت غیرقابل کنترل افزایش می یابد، علائم دیگری از قبیل سندرم هایپراسمولار هیپرگلیسمیک، کتواسیدوز دیابتی، عوارض عروق ریز (رتینوپاتی دیابتی، نفروپاتی دیابتی و نوروپاتی دیابتی)، عوارض عروق بزرگ (بیماری عروق کرونر و سکته مغزی) و به خصوص بیماری های کبدی دیده می شود (۳). در افراد مبتلا به دیابت، کبد نمی‌تواند قند را به گلیکوژن تبدیل کند و یا در مواقع لزوم آن را به شکل گلوکز به جریان خون وارد کند و این به چالش کنترل گلوکز خون می‌افزاید (۶-۴). هم چنین بیماری سیروز کبدی با مقاومت به انسولین مرتبط است. در ۶۰ ٪ افراد مبتلا به سیروز، اشکال در تحمل گلوکز وجود دارد و ۲۰ ٪ افراد مبتلا به سیروز به دیابت مبتلا می‌شوند (۶-۴). از طرف دیگر میزان شیوع سرطان کبد در افراد مبتلا به دیابت چهار برابر بیشتر از سایر افراد است. بنابراین با کنترل و درمان دیابت می توان از بیماری های مذکور جلوگیری نمود (۷،۸). استرپتوزوسین، ماده ای است که در افراد مبتلا به کارسینومای متاستاتیک سلول‌های جزیره‌ای لوزالمعده، به عنوان دارو مورد استفاده قرار می گیرد. اثرات دیابتوژنیک این ماده به خاطر جذب آن توسط سلول های جزایر بتا لوزالمعده و هپاتوسیت ها و اثرات سمی آن بر روی این سلول ها می باشد. در طی مطالعه های مختلف مشخص شده است که استرپتوزوتوسین دارای اثرات زیان باری بر هپاتوسیت های کبدی و دیگر ساختارهای کبدی می باشد (۹). در کنار داروهای شیمیایی فروانی که برای کنترل و درمان دیابت مورد استفاده قرار می گیرد، به کار گیری داروهای گیاهی می تواند اثر مکملی بر این داروها داشته باشد یا حتی با عوارض جانبی و هزینه کمتر به عنوان جایگزینی مناسب برای آن ها باشد. در طی ۱۰ الی ۲۰ سال گذشته تحقیقات آزمایشگاهی و هم چنین مطالعات بالینی متعددی بر روی گیاهان دارویی مورد استفاده انجام گرفت که در تعدادی از آن ها اثرات قابل ملاحظه ای در پیشگری، کنترل و درمان بیماری های مختلفی هم چون دیابت مشاهده شد (۱۲-۱۰). قبل از کشف انسولین و داروهای کاهش دهنده قندخون، بیماران دیابتی با گیاهان دارویی و درمان های سنتی معالجه می شدند. تاکنون تاثیر مثبت بیش از ۱۲۰۰ گیاه دارویی در کاهش میزان قند خون یا کاهش عوارض ناشی از آن شناخته شده است. از مهم ترین گیاهی که تاثیر مثبت آن ها بر دیابت مورد مطالعه قرار گرفته است می توان به پیاز، سیر، خیار تلخ، شنبلیه، سیاه گیله، خار مریم، اسپرزه و چای سبز اشاره نمود. یکی از این گیاهان، گیاه استویا ربادیانا (*Stevia rebaudiana*) می باشد. *S. rebaudiana*، گیاهی از جنس *Stevia* و خانواده *Asteraceae* است که بومی کشورهای آمریکای جنوبی است. درایران این گیاه با همان نام استویا روییده می شود. رشد گیاه به دمای متوسط ۱۵ تا ۳۸ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد نیاز دارد. استویا ربادیانا گیاهی شیرین کننده است و قدرت شیرین کنندگی آن ۳۰۰-۱۵۰ برابر شکر گزارش شده است (۱۳). گیاه استویا به دلیل دارا بودن ترکیبات شیرین غیرقابل هضم و جذب در بدن مورد توجه صنایع تولید غذاهای رژیمی قرار گرفته است. ترکیبات شیرین کنندگی موثره استویا ربادیانا شامل *Steviozide*، *Rebaudioside A, B, C, D, E*، *Dolcosid A* و *Steviolbioside* می باشند. این ترکیبات دارای قدرت آنتی اکسیدانی بسیار بالایی می باشند (۱۴).

مطالعات نشان داده اند که این گیاه حداقل میزان کالری را داشته و مصرف خوراکی آن با این که چندین برابر شیرین تر از شکر می باشد، قند خون را افزایش نمی دهد (۱۵،۱۶). از این رو، امروزه استفاده از گیاه استویا ربادیانا به عنوان شیرین کننده طبیعی در محصولات غذایی به ویژه برای استفاده افراد مبتلا به دیابت اهمیت زیادی پیدا کرده است. طبق مطالعات گذشته ،استویا ربادیانا در افراد مبتلا به هایپرلیپیدمی می تواند چربی خون و فشار خون را به طور چشم گیری کاهش می‌دهد (۱۷). علاوه بر این، در مطالعاتی مشخص شده است که این گیاه به دلیل داشتن

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

ترکیبات آنتی اکسیدانی می تواند به عنوان مکمل ضدمیکروبی نیز استفاده گردد (۲۰-۱۸).

باتوجه به شیوع بیش از حد دیابت در دنیا به خصوص ایران، هدف از مطالعه حاضر، در وهله اول جداسازی قسمت شیرین گیاه استویا ربادیانا از قسمت تلخ آن برای اولین بار و سپس بررسی اثر ضد دیابتی قسمت شیرین آن در موش های سوری دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می باشد.

روش بررسی

جمع آوری، شناسایی و تهیه عصاره آبی گیاه

این مطالعه تجربی در گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی در تابستان سال ۱۳۹۵ و با تائید کمیته اخلاق این دانشگاه انجام شده است. گیاه استویا ربادیانا از محل دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی استان کرمانشاه جمع آوری گردید. بخش های هوایی گیاه (برگ) در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد و در شرایط سایه خشک شده، با استفاده از آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگهداری شد. مقدار ۲۵۰ گرم از پودر گیاه با دقت وزن شده با ۷۵۰ میلی لیتر (به نسبت وزنی/حجمی ۱ به ۳) آب مقطر به مدت ۲ ساعت با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد مخلوط و هم زمان هم زده شد. پس از ۲۴ ساعت، عصاره توسط کاغذ واتمن شماره ۲ صاف شد. در ادامه، برای استخراج قسمت شیرین گیاه ابتدا آن را با نرمال هگزان رسوب دهی و سپس عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری با پمپ خلاء، Heidolph Collegiate, LABOROTA 4000, Germany) گردید و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان یک ساعت، حلال تبخیر شد و عصاره تغلیظ شده به دست آمد. به منظور خشک کردن عصاره گیاه، به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور قرار داده شد. بعد از مرحله خشک کردن، آن را لئوفیلیزه کرده و سپس توزین کرده و در مطالعه استفاده می شود (۱۲).

حیوانات و القاء دیابت

برای انجام این تحقیق از ۳۵ موش سوری نر نژاد Balb/c با میانگین وزنی۳±۳۶ گرم استفاده شد. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دارای دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، دمای ۳۵-۲۳ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد بدون آلودگی صوتی بود. حیوانات در تمام طول آزمایش به آب و غذای مخصوص موش دسترسی داشتند. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین با دوز ۶۰ میلی گرم در هر کیلوگرم صورت گرفت. پس از سه روز قند خون به وسیله دستگاه گلوکومتر (GlucoDr AGM2200) اندازه گیری شد و موش هایی که قند خون بالاتر از ۲۰۰ داشتند به عنوان دیابتی شناخته شدند.

نحوه تیمار

در این مطالعه ۲۸ موش سوری نر بالغ دیابتی به طور تصادفی به ۴ گروه (n=7) تقسیم شدند. یک گروه ۷ تایی هم به عنوان کنترل منفی سالم در نظر گرفته شد (۱۴):

- گروه اول: به عنوان کنترل منفی (دیابتی نشده) در طی ۱۵ روز ۲۰۰ میکرولیتر نرمال سالین به صورت گاواژ روزانه دریافت کردند.
- گروه دوم: به عنوان کنترل مثبت (دیابتی شده) در طی ۱۵ روز، ۲۰۰ میکرولیتر نرمال سالین به صورت گاواژ روزانه دریافت کردند.
- گروه سوم: به عنوان گروه تیمار شده با گلی بنکلامید در طی ۱۵ روز، گلی بنکلامید با دوز ۰/۵ میلی گرم در هر کیلو گرم به صورت گاواژ روزانه دریافت کردند.
- گروه های چهارم و پنجم: در طی ۱۵ روز به ترتیب با دوز های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در هر کیلو گرم عصاره آبی بخش شیرین استویا ربادیانا به صورت گاواژ روزانه تیمار شدند.

مطالعه بیوشیمیایی

در پانزدهمین روز پس از القاء دیابت، خون گیری از قلب موش ها انجام شد و سطح قند خون اندازه گیری شد. هم چنین پس از سانتریوفیوژ نمونه ها و جداسازی سرم، آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) به وسیله کیت های معتبر (کیت های پارس آزمون) توسط دستگاه اتوآنالیزر ۲ Selectra (Spankeren, the Netherlands) اندازه گیری شدند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

مطالعه استرولوژیکی بافت کبد

پس از بیهوش نمودن حیوانات با پنبه آغشته به کلروفرم و تشریح آن ها، کبد از بدن خارج شد و با استفاده از ترازوی دیجیتال (Sartorius, TE212) با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و حجم اولیه (Primary volume) با روش غوطه ورسازی تعیین گردید. سپس نمونه ها به مدت یک هفته در ظروف مخصوص نمونه برداری حاوی مایع ثبوت فرمالین بافر ۱۰ ٪ نگهداری شدند.

از آن جائی که حجم اندام متعاقب ثبوت، پردازش بافتی و رنگ آمیزی دچار چروکیدگی (Shrinkage) می شود، برای تخمین حجم نهایی اندام بایستی میزان چروکیدگی را محاسبه نمود. تخمین میزان چروکیدگی به مقاطع ایزوتروپیک یکنواخت و تصادفی نیاز دارد. این مقاطع با استفاده از روش Orientator به دست آمد. در این روش، هر لوب کبد بر روی دایره ای که هر نیمه آن به ۱۰ قسمت برابر تقسیم شده است قرار گرفت. سپس یک عدد تصادفی بین ۰ تا ۱۰ انتخاب شده و لوب کبدی در جهت عدد انتخاب شده به دو نیمه برش داده شد. سطح برش هر نیمه موازی روی دایره دیگری که هر نیمه آن به ده قسمت نا برابر تقسیم شده است قرار داده شد و دوباره با انتخاب یک عدد تصادفی بین ۰ تا ۱۰ در جهت عدد انتخاب شده برش داده شد. سپس تمام بافت در جهت برش دوم به مقاطع دو میلی متری برش داده شد. به طور کلی از هر کبد ۷ تا ۱۰ مقطع به طور تصادفی انتخاب گردید (۲۱-۲۰). از یکی از مقاطع انتخاب شده قطعه ای دایره ای شکل توسط یک تروکار برداشته و قطر آن توسط کولیس (Vernier caliper, 200 mm; Mitutoyo Corp, Kawasaki, Japan) اندازه گیری شد. سپس تمام مقاطع ایزوتروپیک به دست آمده و قطعه پانچ شده در یک بلوک تحت پردازش معمول بافتی قرار گرفتند و مقاطع ۵ میکرونی از آن ها تهیه و با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. در نهایت میزان چروکیدگی بافتی توسط فرمول زیر محاسبه گردید (۲۱).

$$\text{Volumeshrinkage} := 1 - \left(\frac{AA}{AB}\right)^{1.5}$$

که در آن AA و AB به ترتیب مساحت نمونه دایره ای شکل بعد و قبل از پاساژ و رنگ آمیزی است .حجم نهایی یا حجم مرجع (Reference volume) نیز طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$V_{final} := V_{primary} \times (1 - \text{volume shrinkage})$$

برای محاسبه حجم بافت های مورد مطالعه از هر نمونه یک مقطع انتخاب و ۱۰ تا ۱۴ میدان دید به طور تصادفی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند.

محاسبه حجم نسبی و حجم کل

حجم نسبی ساختارهای کبدی (هپاتوسیت ها، سینوزوئیدها، سیاهرگ باب، سرخرگ کبدی و مجاری صفراوی) توسط گرید (پروب)نقطه تخمین زده شد. بدین منظور یک صفحه ترانس پرنت با ۲۵ علامت + با فواصل طولی و عرضی ثابت (۵× ۵) چاپ و بر روی مانیتور نصب گردید. در بررسی میدان های دید، نقاط برخورد کرده با ساختارهای مورد نظر که در پروب قرار داشتند مورد شمارش قرار گرفتند و حجم نسبی ساختارها با فرمول زیر محاسبه شد:

$$V_v = \sum P_{structure} \; / \; \sum P_{reference}$$

که در آن $\sum P_{structure}$ و $\sum P_{reference}$ به ترتیب مجموع نقاط برخورد کرده با ساختار مورد نظر و مجموع نقاط پروب در n میدان دید است . برای تعیین حجم تام ساختارها، حجم نسبی در حجم مرجع ضرب شد.

تجزیه تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل از این تحقیق از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. با توجه به کمی بودن داده ها، ابتدا طبیعی بودن توزیع فراوانی آن ها توسط آزمون Smirnov Kolmogorov- (p>۰/۰۵). سپس میانگین پارامترها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Duncan's مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصل به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند و سطح معناداری در آزمون ها ۰/۰۵ در نظرگرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی و کمیته اخلاق این دانشگاه تایید شده است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

نتایج

مقادیر قند خون در روزهای هفتم و پانزدهم آزمایش در گروه های تیمار شده با گلی بنکلامید و دوزهای مختلف عصاره آبی استویا ربادیانا نسبت به گروه دیابتی تیمار نشده کاهش معنی دار داشت (P <۰/۰۵). از طرف دیگر اختلاف معنی داری بین گروه های تیمار شده با عصاره استویا ربادیانا و گلی بنکلامید مشاهده نشد (P >۰/۰۵) (جدول۱). مقادیر آنزیم کبدی ALT در گروه های دریافت کننده گلی بنکلامید و دوزهای مختلف عصاره آبی استویا ربادیانا نسبت به گروه دیابتی تیمار نشده کاهش معنی دار داشت (P <۰/۰۵). اما این کاهش در گروه های دریافت کننده عصاره محسوس تر بود. هم چنین آنزیم ALP تنها تحت تاثیر دوز بالای عصاره آبی گیاه استویا کاهش معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵) و در سایر گروه ها تغییر معنی داری نسبت به گروه دیابتی درمان نشده نداشت. آنزیم AST در گروه های دریافت کننده عصاره آبی استویا ربادیانا نسبت به گروه دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری نداشت (P >۰/۰۵) (جدول۲).

طبق نتایج حاصل از بررسی های استریولوژیکی، وزن و حجم کبد که در گروه دیابتی درمان نشده و گروه تیمار شده با گلی بنکلامید نسبت به گرول کنترل منفی افزایش معناداری داشت، در گروه دریافت کننده دوز بالای عصاره آبی استویا ربادیانا کاهش معنی دار نشان داد (P <۰/۰۵). هم چنین حجم هپاتوسیت ها و سینوزوئیدها در گروه دریافت کننده دوز بالای عصاره کاهش معنی داری نسبت به گروه دیابتی درمان نشده داشت (P <۰/۰۵). حجم سیاهرگ مرکزی و سرخرگ کبدی در گروه های دریافت کننده دوزهای بالا و پایین عصاره استویا رباندیانا کاهش معناداری نسبت به گروه دیابتی درمان نشده داشت (P >۰/۰۵). حجم سیاهرگ باب و مجاری صفراوی در هیچ یک از گروه ها تفاوت معناداری را نشان نداد (P >۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول ۱: مقادیر قند خون (میلی مول در لیتر) در گروه های کنترل منفی و مثبت و گروه های تیمار که با دوز های مختلف عصاره آبی استویا درمان شده اند. مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

گروه ها (n=7)	میزان قند خون (میلی مول در لیتر) روزاول	روز هفتم	روز پانزدهم
گروه ۱	۹۷/۲±۳/۳^{b}	۷۵/۸±۵/۷^{c}	۶۲/۶±۳/۷^{b}
گروه ۲	۲۳۳/۸±۱۳/۳^{a}	۲۲۱±۱۲/۲^{a}	۲۳۶±۸/۸^{a}
گروه ۳	۲۱۰±۴۰^{a}	۱۸۵±۱۱/۹^{b}	۱۳۰±۷/۸^{c}
گروه ۴	۲۳۳/۵±۸^{a}	۱۸۲/۲±۴/۴^{b}	۱۳۶/۲±۱۳/۵^{c}
گروه ۵	۲۴۲/۸±۱۳/۴^{a}	۱۸۲/۴±۲/۸^{b}	۱۳۲/۸±۱۳/۵^{c}

گروه ۱: کنترل منفی، گروه ۲: کنترل مثبت، گروه ۳: تیمار شده با گلی بنکلامید، گروه ۴و ۵: تیمار شده با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم در هر کیلوگرم عصاره استویا. حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد (P <۰/۰۵).

جدول ۲: مقادیر آنزیم های کبدی (میلی گرم در دسی لیتر) در گروه های کنترل منفی و مثبت و گروه های تیمار که با دوز های مختلف عصاره آبی استویا درمان شده اند. مقادیر به صورت میانگین ±انحراف معیار بیان شده اند.

گروه ها	آنزیم های کبدی (میلی گرم در دسی لیتر) ALP	ALT	AST
گروه ۱	۲۱۲±۲۱/۶^{b}	۳۶/۳۳±۵/۳۶^{b}	۲۷۶±۹۲^{c}
گروه ۲	۲۱۵±۴۳^{b}	۴۰/۷۵±۶/۰۲^{a}	۳۴۶/۵±۱۲۳/۹۵^{a}
گروه ۳	۲۹۸/۸±۱۰۸^{a}	۳۷/۲±۵/۹^{b}	۳۳۹/۸±۱۵۶/۶^{a}
گروه ۴	۲۰۶±۴۴/۶^{b}	۳۲/۵±۳/۷^{c}	۳۳۵/۵±۶۳/۶^{a}
گروه ۵	۱۹۶/۴±۵۸/۳^{b}	۳۱/۴±۲/۴^{c}	۳۱۳/۴±۷۸/۱^{b}

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

گروه ۱: کنترل منفی، گروه ۲: کنترل مثبت، گروه ۳: تیمار شده با گلی بنکلامید، گروه ۴و ۵: تیمار شده با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم در هر کیلوگرم عصاره استویا. حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد ($P<0/05$).

جدول ۳: وزن (میلی گرم) وحجم تام (میلی متر مکعب) کبد و ساختارهای کبدی در گروه های کنترل منفی و مثبت و گروه های تیمار که با دوز های مختلف عصاره آبی استویا درمان شده اند. مقادیر بصورت میانگین ±انحراف معیار بیان شده اند

گروه ها(n=7)	وزن کبد	حجم (میلی متر مکعب) کبد	هپاتوسیت ها	سینوزوئیدها	سیاهرگ مرکزی	سیاهرگ باب	سرخرگ کبدی	مجاری صفراوی
گروه ۱	۱۳۳۰±۲۷۰^{c}	۱۳۰۹±۳۵۰^{c}	۹۷۵±۱۳۸^{c}	۷۵±۲۳^{b}	۱۶۱±۲۶^{a}	۶۵±۲۱^{a}	۸±۱/۵^{b}	۱۶±۵^{a}
گروه ۲	۱۴۳۰±۲۷۰^{b}	۱۴۱۵±۳^{b}	۱۰۵۲±۳۱/۵^{b}	۱۱۹±۱۴/۵^{a}	۱۷۲/۶±۱۹/۶^{a}	۵۵/۳±۱۰/۲^{a}	۱۱±۴^{b}	۱۷±۴/۵^{a}
گروه ۳	۱۵۵۰±۱۶۰^{a}	۱۵۱۸±۱۵^{a}	۱۱۵۱±۲۶/۵^{a}	۱۱۳/۴±۹/۷^{a}	۱۳۴/۲±۱۳/۳^{b}	۶۶/۲±۸/۵^{a}	۱۶/۶±۵/۵^{a}	۱۹/۴±۶/۷^{b}
گروه ۴	۱۴۷۰±۱۳۰^{b}	۱۴/۶±۱۹/۴^{b}	۱۱۲۱±۴۵^{a}	۹۴/۶±۱۱^{b}	۱۲۲/۶±۸^{b}	۵۶/۳±۱۴/۲^{a}	۱۰/۸±۳/۲^{b}	۱۴/۳±۳/۷^{a}
گروه ۵	۱۳۶۰±۱۲۰^{c}	۱۲۷۵±۱۶/۹^{c}	۹۶۴±۳۲/۵^{c}	۷۸±۹/۸^{b}	۱۲۵±۱۸/۳^{b}	۵۸±۴/۲^{a}	۱۰/۱±۲/۶^{b}	۱۶/۲±۱^{a}

گروه ۱: کنترل منفی، گروه ۲: کنترل مثبت، گروه ۳: تیمار شده با گلی بنکلامید، گروه ۴و ۵: تیمار شده با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم در هر کیلوگرم عصاره استویا. حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد ($P<0/05$).

بحث

امروزه نقش گیاهان دارویی در درمان بیماری ها از جمله بیماری های مزمن ثابت شده است (۲۲،۲۳). جدید ترین مقالات منتشر شده بر پایه تحقیقات علمی نشان می دهد که این گیاهان تاثیرات مثبتی بر پیشگیری و درمان بیماری های مختلفی داشته اند (۲۴،۲۵). این گیاهان زمانی که به شکل عصاره استفاده می شوند، اثر درمانی آن ها به مراتب افزایش می یابد. عصاره ها از قسمت های مختلفی از گیاهان نظیر ریشه، ساقه، برگ، میوه و... استخراج می شوند (۲۶). عصاره های گیاهی برای درمان بیماری های مختلفی هم چون بیماری های عفونی، عصبی، قلبی-عروقی، دیابت و... مورد استفاده قرار می گیرد (۲۹-۲۷). عصاره های گیاهی به ویژه عصاره های آبی، مقاومت انسولین را در بدن کاهش داده و با افزایش تعداد گیرنده های انسولین در گلبول های قرمز، میزان قند خون را کنترل می کنند و نهایتاً با به کارگیری گلوکز در بافت های پیرامونی، میزان گلوکز خون را کاهش می دهند (۱۴).

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان می دهد که استفاده از عصاره آبی بخش شیرین برگ گیاه استویا ربادیانا، قند خون را به طور معناداری کاهش می دهد. در مطالعه قبلی نشان داده شد که دوز ۴۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم عصاره آبی گیاه استویا ربادیانا از طریق ایجاد اثرات شبه انسولینی سبب کاهش قند خون از حدود ۶۰۰ به ۲۱۰ می شود. در مطالعه مذکور بیان شد که گیاه استویا ربادیانا از طریق بازسازی سلول های بتاپانکراس و تولید انسولین توسط این سلول ها سبب کاهش قند خون می گردد (۳۰). هم چنین در مطالعه دیگری بیان گردید که عصاره متانولی گیاه استویا ربادیانابا به دلیل این که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی است در دوز ۱۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم، با ترمیم سلول های بتا پانکراس باعث کاهش قند خون از حدود ۱۹۳ به ۱۱۶ می شود (۳۱). در مطالعه مشابهی گزارش شده است که عصاره آبی گیاه استویا ربادیانا در دوز ۱۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم با اعمال اثرات شبه انسولینی سبب کاهش قند خون از حدود ۲۸۱ به ۲۲۹ در موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین می شود. هم چنین در این مطالعه نشان داده شد وقتی که عصاره آبی گیاه استویا ربادیانا در ترکیب با با عصاره آبی گیاه شنبلیه در دوز ۵۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم تجویز شود، سبب کاهش قند خون از ۲۸۰ به ۱۳۹ می شود (۳۲). هم چنین در مطالعه دیگری نشان داده شد که گیاه استویا ربادیانا باعث کاهش قند خون در دوزهای ۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم می شود (۳۳).

در مطالعه حاضر، هر دو دوز عصاره آبی گیاه استویا ربادیانا افزایش AST، ALT و دوز بالای آن افزایش ALP ناشی از

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

مسمومیت با استرپتوزوسین را به صورت معناداری کاهش داد. این آنزیم ها که به طور طبیعی در سلول های کبدی ساخته می شوند، در هنگام آسیب سلول ها به دلیل اختلال در غشاء پلاسمایی وارد جریان خون شده و سطوح سرمی آنها افزایش می یابد. به همین علت، افزایش این آنزیم ها را می توان به آسیب در یکپارچگی ساختار و عملکرد مناسب کبد نسبت داد. بنابراین اندازه گیری این آنزیم ها و هم چنین بررسی های هیستوپاتولوژیکی معیارهای مناسبی برای ارزیابی عملکرد کبد محسوب می گردند (۳۰). در مطالعاتی نشان داده شد که گیاه استویا ربادیانا سبب کاهش معناداری در میزان آنزیم های AST ، ALT و ALP نسبت به گروه کنترل دیابتی در دیابت القاء شده توسط استرپتوزوسین می شود (۳۴،۳۵). در مطالعه مشابهی نشان داده شد که گیاه استویا ربادیانا در دوزهای ۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم باعث کاهش سطح آنزیم های فوق می گردد. هم چنین این اثر با دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم نیز تائید شده است (۳۶).

مطالعات استرولوژیکی نشان داد که وزن، حجم کبد، هپاتوسیت ها و سینوزوئیدها در گروه دریافت کننده دوز بالای عصاره آبی استویا ربادیانا نسبت به سایر گروه های دیابتی کاهش بیشتری یافته است. این یافته نیز نشان دهنده قدرت این گیاه در دوز بالا در کاهش آسیب های کبدی ناشی از استرپتوزوسین است. در مطالعه مشابهی نشان داده شد که مصرف عصاره گیاه استویا ربادیانا در موش های صحرایی های دیابتی از هایپرتروفی سلول های هپاتوسیت جلوگیری نموده و سبب منظم شدن صفحات هپاتوسیتی می شود. هم چنین در مطالعه فوق گزارش شده است که حجم سیاهرگ های مرکزی در موش های صحرایی های دیابتی در گروه دریافت کننده عصاره گیاه استویا ربادیانا تغییری جندانی نمی کند (۳۳).

نتیجه‌گیری

به طور کلی عصاره آبی برگ گیاه استویا ربادیانا به ویژه در دوز بالا، می تواند در جلوگیری از تغییرات آنزیم های نشانگر کبد، AST، ALT و ALP و هم چنین تنظیم قند خون موش های سوری دیابتی شده با استرپتوزوسین موثر واقع گردد، هم چنین، باعث بهبود ساختار کبد شده و از تخریب بافت کبد در بیماری دیابت پیشگیری به عمل می آورد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه رازی برای حمایت های مالی و هم چنین از تمامی کارکنان آزمایشگاه های بخش پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی برای تهیه نمونه های سرمی و بررسی های بیوشیمیایی تقدیر و تشکر می گردد.

تعارض در منافع: وجود ندارد

References:

1- Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. ***Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes.*** Diabetes Care 2009; 32 (7): 1335-43.

2- Gallou G, Ruelland A, Legras B, Maugendre D, Allanic H, Cloarec L. ***Plasma MDA in type 1 and type 2 diabetes.*** Clin Chim Acta 1993; 214(2): 227-34.

3- Sonksen P, Sonksen J. ***Insulin: understanding its action in health and disease.*** Brit J Anaesth 2000; 85(1): 69-79.

4- Philip M, Richard G, Lori M, Peter S. ***Chronic Kidney Disease in Diabetes.*** Can J Diabetes 2013; 37: S129-S136.

5- Paul P, Robert D, Andre C, Eric L. ***Screening for the Presence of Coronary Artery Disease.*** Can J Diabetes 2013; 37: S105-S109.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

6- Mukul S, Gordon G. ***Management of Stroke in Diabetes.*** Can J Diabetes 2013; 37: S124-S125.

7- Androli T, Carpenter C, Griggs R, Benjamin I. ***Diseases of the Liver and Biliary System. in: Cecil's Essentials of Medicine.*** 7th ed. USA: WB Saunders Company 2007.

8- Loguercio C, Federico A. ***Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis.*** Free Radic Biol Med 2003; 34(1):1-10.

9- Giannini EG, Testa R, Savarino V. ***Liver enzyme alteration: a guide for clinicians.*** CMAJ 2005; 172(3): 367-79.

10- Najafi F, Tahvilian R, Zangeneh MM, Zangeneh A, Moradi R. ***Medicinal plant: Assessment of the chemical composition and in vitro antibacterial activities of the Viola odorata Linnoil's against Bacillus subtilis (ATCC No. 21332) in west of Iran.*** Int J Sci Eng Res 2016; 7(11): 1330-39.

11- Faramarzi E, Zangeneh MM, Zangeneh A, Moradi R. ***Effect of Cinnamomum zelanicum on oil on hyponeophagia anxiety test in Balb C male mice.*** Onl J Vet Res 2017; 21(2):77-80.

12- Moradi R, Hajialiani M, Zangeneh MM, Zangeneh A, Faizi S, Zoalfaghari M, Marabi A. ***Study a plant extract as an antibacterial agent.*** Int J Current Med Pharm Res 2017; 3(2): 1360-62.

13- Zangeneh MM, Najafi F, Tahvilian R, Haghnazari L, Zangeneh A, Abiari M, et al. ***Study on the in vitro antibacterial properties of alcoholic extract of Stevia rebaudiana in west of Iran.*** Int J Sci Eng Res 2016; 7(11): 1352-59.

14- Hagh-Nazari L, Goodarzi N, Zangeneh MM, Zamgeneh A, Tahvilin R, Moradi R. ***Stereological study of kidney in streptozotocin-induced diabetic mice treated with ethanolic extract of Stevia rebaudiana (bitter fraction).*** Comp Clin Pathol 2017; 26:455–63.

15- Atteh JO, Onagbesan OM, Tona K, et al. ***Evaluation of supplementary stevia (Stevia rebaudiana, bertoni) leaves and stevioside in broiler diets: effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance.*** J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2008; 92(6): 640-49.

16- Agarwal V, Kochhar A,Sachdeva R. ***Sensory and Nutritional Evaluation of Sweet Milk Products Prepared Using Stevia Powder for Diabetics.*** Ethno Med 2010; 4(1): 9-13.

17- Da Silva GES, Assef AH, Albino CC, Funari Ferri LDA, Tasin G, Takahashi MH, Filho WE, Bazotte RB. ***Investigation of the tolerability of oral stevioside in Brazilian Hyperlipidemic patients.*** Braz Arch Biol Technol 2006; 49(4): 583-7.

18- Zangeneh MM, Najafi F, Moradi R, Tahvilian R, Haghnazari L, Zangeneh A. ***Evaluation of the in vitro antibacterial activities of alcoholic extract of Stevia rebaudiana against Escheriachia coli O157: H7 (ATCC No. 25922).*** Asian J Pharm Anal Med Chem 2016; 4(3): 131-36.

19- Zangeneh MM, Najafi F, Tahvilian R, Salmani S, Haghnazari L, Zangeneh A, Moradi R. ***Ethnomedicinal Plants: In vitro Antibacterial Effects of Ethanolic Extract of Stevia***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

rebaudiana. Int J Ayu Pharm Chem 2017; 6(1): 251-59.

20- Zangeneh MM, Poyanmehr M, Najafi F, Zangeneh A, Moradi R, Tahvilian R, Haghnazari L. ***In vitro antibacterial activities of ethanolic extract of Stevia rebaudiana against Bacillus subtilis (ATCC No. 21332).*** Int J Res Pharma NanoSci 2016; 5(6): 320-25.

21- Nyengaard JR. ***Stereologic methods and their application in kidney research.*** J Am Soc Nephrol 1990; 10(5):1100-23.

22- Zangeneh MM, Tahvilian R, Zangeneh A, Moradi R, Najafi F, Haghnazari L. ***Effect of Alhagi maurorum oil on anxiety markers in Balb/C male mice.*** Onl J Vet Res 2017; 21(3):115-7.

23- Zangeneh MM, Zangeneh A, Moradi R, Hajialiani M, Sadeghi S, Khaef S, Nazari M, Malaki H. ***Effect of Cucurbita moschata oil seed on growth of Staphylococcus aureus ATCC No. 25923.*** Onl J Vet Res 2017; 21(3): 106-9.

24- Zangeneh MM, Najafi F, Tahvilian R, Haghnazari L, Zangeneh A, Moradi R, Mahmoudifar. A. ***Effect of Allium sativum oil on Escherichia coli O157:H7.*** Onl J Vet Res 2017; 21(1):19-22.

25- Foroughi A, Pournaghi P, Zhaleh M, Zangeneh A, Zangeneh MM, Moradi R. 2016. ***Antibacterial activity and phytochemical screening of essential oil of Foeniculum vulgare.*** Int J Pharm Clin Res 8(11): 1505-9.

26- Foroughi A, Pournaghi P, Najafi F, Zangeneh A, Zangeneh MM, Moradi R.. ***Evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of Pimpinella anisem's essential oil.*** Int J Pharm Phytochem Res 2016; 8(11): 1886-90.

27- Zangeneh MM, Najafi F, Tahvilian R, Haghnazari L, Zangeneh A, Moradi R, Mahmoudifar A. ***Effect of Scrophulariastriata hydro-alcoholic extract on growth of Bacillus subtilis ATCC No. 21332.*** Onl J Vet Res 2017; 21(2): 51-7.

28- Foroughi A, Zangeneh MM, Kazemi N, Zangeneh A. ***An in vitro study on antimicrobial properties of Allium noeanumreut ex regel: An ethnomedicinal plant.*** Iran J Pub Health 2016; 45(2): 32.

29- Foroughi A, Pournaghi P, Tahvilian R, Zangeneh MM, Zangeneh A, Moradi R. ***Assessment of chemical composition and antibacterial effects of Anethole-rich hydroalcoholic extract of Pimpinell aanisum.*** Int J Pharm Clin Res 2016; 8(11): 1459-63.

30- Assaei R, Mokarram P, Dastghaib S, Darbandi S, Darbandi M, Zal F, Akmali M, Omrani GHR. ***Hypoglycemic Effect of Aquatic Extract of Stevia in Pancreas of Diabetic Rats: PPARγ - dependent Regulation or Antioxidant Potential.*** Avicenna J Med Biotech 2016; 8(2): 65-74.

31- Singh S, Garg V, Yadav D. ***Antihyperglycemic and antioxidative ability of Stevia rebaudiana (Bertoni) leaves in diabetes induced mice.*** Int J Pharm Pharm Sci 2013; 5(2): 297-302.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

32- Mostofa M, Rafiq K, Nishiyama A, Barman BC, Sherajee SJ. ***Comparative efficacy of Stevia leaf (Stevia rebaudiana bertoni) meeti seeds (Trigonella foenum-Graecum) and and Glimepiride in streptozotocin induced diabetic rats.*** Bangladesh J Vet Med 2011; 2(1): 9-14.

33- Abo Elnaga NIE, Massoud MI, Yousef MI, Mohamed HHA. ***Effect of stevia sweetener consumption as non-caloric sweetening on body weight gain and biochemical's parameters in overweight female rats.*** Ann Agri Sci 2016; 61(1): 155-63.

34- Becq ME, Zarca O, Brechot GE. ***Liver function tests.*** J Hepatol 1996; 23(1): 1030.

35- Akbarzadeh S1, Eskandari F, Tangestani H, Bagherinejad ST, Bargahi A, Bazzi P, et al. ***The effect of Stevia rebaudiana on serum omentin and visfatin level in STZ-induced diabetic rats.*** J Diet Suppl 2015; 12(1): 11-22.

36- Ramanathan P, Sri Sellappan R. ***Safety study of aqueous leaves extract of Stevia rebaudiana leaves in albino rats.*** Int J Pharm Sci 2010; 2(1): 477–81

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 4 | Jul 2018

Received: 7 Jun 2017
Accepted: 16 Sep 2017

Evaluation of Antidiabtic and hepatoprotective effects of aquatic extract of *Stevia rebaudiana* leaves (sweet fraction) in streptozotocin-induced diabetic mice

Mohammad Mahdi Zangeneh[1] Nader Goodarzi[*2], Akram Zangeneh[1]

Original Article

Introdution: Stevia rebaudiana has been recently known as an antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial agent. Hepatoprotective and antidiabetic properties of the aquatic extract of Stevia. rebaudiana on diabetic male mice have been assessed in the present study.

Methods: In this experimental study, diabetes was induced by administration of 60 mg/kg of streptozotocin intraperitoneally in 28 mature male mice and they were randomly divided into 4 groups. One group considered as non-diabetic negative control. The non-diabetic and diabetic negative control groups received normal saline and the treatment groups received glibenclamide at dose 0.5 mg/kg and aquatic extract of Stevia rebaudiana at doses of 200 and 400 µg/kg through gavage for 15 consecutive days. On the last day, serum levels of blood glucose and AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanineaminotransferase), and ALP (alkaline-phosphatase) enzymes were measured. Structural changes of the liver tissue was assessed stereologically. The data were analyzed by one way variance analysis and Duncan's test using SPSS 21.

Results: The levels of blood glucose and ALT and ALP enzymes were decreased significantly ($P < 0.05$) in aquatic extract-treated groups as compared to the positive control group. The total volume of liver, hepatocytes, sinusoids, central vein, and hepatic artery decreased significantly ($P < 0.05$) after treatment with high dose of Stevia rebaudiana aquatic extract.

Conclusion: It seems that the Stevia rubadiana sweet extract can prevent hepatic tissue damage in diabetic mice by regulating serum glucose levels and liver enzymes.

Keywords: Stevia rebaudiana, Streptozotocin, Diabetes, Liver, Mice

Citation: Zangeneh MM, Goodarzi N, Zangeneh A**. Evaluation of Antidiabtic and hepatoprotective effects of aquatic extract of *Stevia rebaudiana* leaves (sweet fraction) in streptozotocin-induced diabetic mice.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(4): 319-29

[1] Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran.
[2] Department of Basic and Pathobiological Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 09112388340, **email:** n.goodarzi@razi.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-24]