Nova Biologica Reperta 6(2): 131-139 (2019)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۱۳۱ الی ۱۳۹ (۱۳۹۸)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

تأثیر توأم عصارهٔ هیدروالکلی ریشهٔ گزنه و متفورمین بر بافت تخمدان مدل دیابتی موش صحرایی نژاد ویستار

حدیثه اسفده، غدیره میرابوالقاسمی، مهناز آذرنیا
گروه علوم جانوری،دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی،تهران، ایران
مسئول مکاتبات: مهناز آذرنیا، azarnia@khu.ac.ir

چکیده. دیابت ملیتوس با مقاومت انسولین، به عنوان اختلال عملکرد سلول‌های بتا و افزایش تولید گلوکز کبدی شناخته می‌شود. کنترل ضعیف گلوکز در زمان هیپرگلیسمی سبب ایجاد آسیب به بافت ها و ایجاد عواقب خطرناک مانند ناباروری می شود. هیپرگلیسمی مزمن اثرات مضری روی رشد فولیکول ها دارد که برای عملکرد طبیعی جنسی زنان ضروری است. متفورمین بیشترین داروی تجویزی در بیماری دیابت است. اما داروهای شیمیایی علی رغم فواید غیر قابل انکار، دارای اثرات مخرب نیز هستند. از این رو استراتژی های جایگزین برای داروهای فعلی دیابت ضروری است. داروهای گیاهی به طور وسیعی توسط بیماران، بنا بر توصیه های غیر پزشکی به عنوان مواد پایین آورندهٔ قند خون استفاده می شوند که گیاه گزنه از جمله این گیاهان است. گزنه از طریق ترشح انسولین و افزایش تکثیر سلول‌های بتای پانکراس باعث کاهش سطوح گلوکز پلاسما می شود. هدف پژوهش حاضر تعیین اثر عصارهٔ ریشهٔ گزنه به عنوان مکمل متفورمین بر بافت تخمدان مدل دیابتی است. در این مطالعه، از ۳۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰ ± ۱۸۰ گرم استفاده شد. حیوانات تحت آزمایش پس از توزین، بطور تصادفی به ۵ گروه۶ تایی تقسیم شدند. ۱) گروه کنترل، ۲) گروه دیابتی که با داروی آلوکسان (۱۵۰mg/kg) به صورت تزریق داخل صفاقی دیابتی شدند، ۳) گروه دیابتی + عصارهٔ ریشهٔ گزنه (۱۵۰ mg/kg)، ۴) گروه دیابتی + متفورمین (۱۵۰mg/kg)، ۵) گروه دیابتی + متفورمین (۱۵۰ mg/kg) + عصارهٔ ریشهٔ گزنه (۱۵۰mg/kg). در پایان دوره درمان، اثر متفورمین و عصارهٔ ریشهٔ گزنه بر روی وزن بدن، بافت تخمدان و فاکتورهای بیوشیمیایی ازجمله قند خون و هورمون‌های جنسی تحت بررسی و مقایسه قرار گرفت. هم چنین داده‌های به‌دست آمده با استفاده از تحلیل‌های آماری مقایسه شد. هیپرگلیسمی و کاهش وزن بدن بعد از تجویز متفورمین و ریشه گزنه به مدت ۴ هفته بهبود پیدا کرد. تجویز هم زمان متفورمین و عصاره ریشه گزنه سبب افزایش معنی دار فولیکول های آغازین، اولیه، ثانویه، جسم زرد و کاهش فولیکول های آترتیک و افزایش معنی‌دار سطح هورمون های FSH، LH و تستوسترون نسبت به استفاده متفورمین به تنهایی بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ریشه گزنه با دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و دیگر خواص خود می تواند به عنوان مکمل متفورین دارای عملکرد اصلاحی بر هیپرگلایسمی و بهبود اختلالات تخمدان باشد.

واژه‌های کلیدی. آلوکسان، اورتیکا، پزشکی جایگزین، هورمون، هیپرگلیسمی

The joint effect of hydro-alcoholic extract of nettle root and metformin on ovarian tissue of diabetic model of Wistar rat

Hadiseh Esfadeh, Ghadire Mirabolghasemi, Mahnaz Azarnia
Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
Correspondent author: Mahnaz Azarnia, azarnia@khu.ac.ir

Abstract. Diabetes mellitus is known to be resistant to insulin, to dysfunction of beta cells and to increase liver glucose production. Poor glucose control during hyperglycemia causes damage to the tissues and creates dangerous consequences, such as infertility. Chronic hyperglycemia has harmful effects on the growth of follicles, which is essential for normal female sexual function. Metformin is the most widely prescribed drug in diabetes, but chemical drugs, despite their undeniable benefits, have destructive effects, so alternative strategies for current modern diabetes medications are essential. Herbal medicines are widely used by patients, based on non-medical recommendations and as blood-glucose-lowering agents, including the nettle. Nettle contributes to lower plasma glucose levels by secreting insulin and increasing the proliferation of beta cells in the pancreas. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of nettle extract

Received 13.01.2018/ Revised 05.06.2019/ Accepted 11.06.2019/ Published 01.08.2019
دریافت ۱۳۹۶/۱۰/۲۳/اصلاح ۱۳۹۸/۰۳/۱۵/پذیرش ۱۳۹۸/۰۳/۲۱/انتشار ۱۳۹۸/۰۵/۱۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

as a supplement of metformin on ovarian tissue of diabetic model .In this experimental study, 30 female Wistar rats were used. Animals were weighed and randomly divided into 5 groups (n=6). 1) control group 2) diabetic group who were diabetic with intravenous injection of alloxan (150 mg / kg) 3) diabetic group + Nettle root extract (150 mg / kg) 4) diabetic + metformin (150mg / kg) 5) Diabetic group + Metformin(150 mg / kg) + Nettle root extract(150 mg / kg). At the end of treatment, the effect of metformin and nettle root extract on ovarian tissue and biochemical factors such as blood glucose and sex hormones were compared and the data obtained were analyzed by SPSS. Hyperglycemia and body weight loss after metformin and nettle root increased for 4 weeks. Simultaneous administration of metformin and extracts of nettle root significantly increased the primordial, primary, secondary, and corpus luteum and reduced the atretic follicles and significantly increased FSH, LH and testosterone levels as compared with metformin alone. The results of this study showed that the root of nettle with its antioxidant compounds and other properties could be a complement to metformin with a corrective effect on hyperglycemia and the improvement of ovarian disorders.

Keywords. alloxan, alternative medicine, hormone, hyperglycemia, nettle

مقدمه

دیابت ملیتوس با نارسایی انسولین یا اختلال نقص انسولین(Khidr *et al.*, 2017) ، اختلال عملکرد سلول های بتا و افزایش تولید گلوکز کبدی شناخته می شود (Coughlan *et al.*, 2014). دیابت هم چنین می‌تواند بر عملکرد غدد جنسی تأثیر بگذارد. در زنان دیابتی هیپرگلیسمی کنترل نشده، کمبود انسولین و عوارض مزمن دیابت باعث کاهش ذخایر تخمدان می‌شود (Akman *et al.*, 2015). متفورمین اساس درمان دیابت نوع ۲ و بیشترین دارو تجویزی دراین بیماری است (Nathan *et al.*, 2009). مزایای بالینی عمده متفورمین شامل کاهش تولید گلوکز کبدی و بهبود حساسیت به انسولین محیطی است (Song, 2016). متفورمین فعالیت آنتی‌هیپرگلیسمی خود را عمدتاً با مهار گلوکونئوژنز کبدی و افزایش فعالیت انسولین دراندام‌های خاصی نظیر عضله و چربی اعمال می‌کند (Cho *et al.*, 2015). بسیاری از داروهای شیمیایی مورد استفاده در بیماری دیابت، علی‌رغم فواید غیرقابل‌انکار، دارای آثار مخرب متعدد نظیر افزایش ذخایر چربی، تحلیل رفتن بافت چربی در محل تزریق و بروز شوک هیپوگلیسمی بوده است (Hunt *et al.*, 2000). بنابراین استراتژی‌های جایگزین برای داروهای مدرن فعلی دیابت ضروری است. داروهای گیاهی به طور وسیعی توسط بیماران، بنا برسنت‌ها و توصیه های‌غیرپزشکی به عنوان مواد پایین آورندهٔ قند خون استفاده می‌شوند. از جمله این داروها که مورد مصرف آن سابقهٔ تاریخی طولانی دارد، گیاه گزنه است. گزنه با نام علمی *Urtica dioica* L. متعلق به تیرهٔ Urticaceae است. در این تیره بیش از ۶۰۰ گونه در ۴۵ سرده گزارش شده است. *Urtica* یکی از مهم‌ترین سرده‌ها و شامل ۳۰ گونه است (Mukundi *et al.*, 2017) افزایش ترشح انسولین و افزایش تکثیر سلول‌های بتای پانکراس توسط گیاه گزنه، که باعث کاهش سطوح گلوکز سرم می‌شود، احتمالاً به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی این گیاه مربوط می‌شود (Golalipour *et al.*, 2010). فلاونوئیدها از ترکیبات بسیار مهم وآنتی‌اکسیدانی ریشه گزنه هستند (Abrol *et al.*, 2005). فلاونوئیدهای اصلی شامل کورستین، روتین و کامفرول هستند. فعال ترین فلاونوئید موجود در ریشه گزنه، کورستین است که خواص آنتی‌اکسیدانی قوی و ضدالتهابی دارد (Nabrdalik & Grata., 2015).

با توجه به اثر آنتی‌اکسیدانی گزنه، در تحقیق حاضر بر آن شدیم اثر ترکیبی عصارهٔ ریشهٔ گزنه، به عنوان یک داروی گیاهی مکمل، با داروی متفورمین، به‌عنوان داروی کاهنده قند خون، را بر میزان قند خون و فاکتورهای تولید مثلی تخمدان بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۳۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰ ±۱۸۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تهران خریداری شدند. حیوانات تحت برر سی در شرایط ۱۲ ساعت رو شنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. موش‌ها د ستر سی کامل به آب و غذا داشتند و پس از یک هفته جهت سازش با محیط جدید، به‌طور تصادفی به ۵ گروه۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل: بدون در یافت دارو با رژیم غذائی معمولی؛ ۲) گروه د یابتی: این گروه با محلول تازه تهیه شده آلوکسان با دوز ۱۵۰mg/kg (Unal *et al.*, 2011) به صورت محلول در آب مقطر (۵ درصد) بعد از ۲۴ ساعت نا شتا (بدون دریافت غذا) به روش تزریق داخل صفاقی دیابتی شدند (Gupta *et al*, 2005)؛ ۳) گروه دیابتی دریافت کننده عصارهٔ ریشهٔ گزنه: این گروه همانند گروه ۲ دیابتی شدند و عصارهٔ ریشهٔ گزنه با دوز ۱۵۰mg/kg (Kargar Jahromi &

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

Karimi Jashni, 2016) را به‌صورت تزریق داخل صفاقی با استفاده از سرنگ انسولین روزانه به مدت چهار هفته دریافت کردند؛ ۴) گروه دیابتی دریافت کننده متفورمین: این گروه هم مانند گروه ۲و ۳ دیابتی شدند ومتفورمین با دوز ۱۵۰mg/kg (Salemi *et al.*, 2016) را به صورت محلول در آب مقطر به روش گاواژ با استفاده از سرنگ مخصوص روزانه به مدت چهار هفته دریافت کردند (Akiniola *et al.*, 2012)؛ ۵) گروه دیابتی دریافت کننده عصارهٔ ریشهٔ گزنه و متفورمین: این گروه بعد از دیابتی شدن به مدت چهار هفته عصارهٔ ریشهٔ گزنه ۱۵۰ mg/kgو متفورمین۱۵۰mg/kg را دریافت کردند.

نحوه آماده سازی عصارهٔ ریشهٔ گزنه

عصاره گیری به روش ماسراسیون یعنی خیساندن گیاه در حلال انجام گرفت، به این صورت که ریشهٔ گزنه توسط آسیاب چندباره خرد شد و ۶۰ گرم از گیاه آسیاب شده به ظرف استوانه ای شیشه ای دارای خروجی منتقل شد. حلال استفاده شده اتانول ۸۰ درصد، وحجم مورد استفاده برای ۶۰ گرم گیاه ۱۰۰ میلی لیتر بود. در هر مرحله گیاه به همراه حلالی که حدودا" ۲تا ۳ سانتی متر روی گیاه را پوشانده بود به مدت ۷۲ ساعت در ظرف در بسته باقی می ماند. عصارهٔ جمع آوری شده توسط دستگاه تقطیر با خلاء تغلیظ شده، سپس عصارهٔ تغلیظ شده به ظرف دیگری منتقل و تا زمان تبخیر کامل حلال در آون خلاء نگهداری شد. در نهایت عصارهٔ تام تغلیظ شده با وزن نهایی ۲۳۷ گرم بدست آمد.

بررسی صحت القای دیابت

در حیوانات بعد از گذشت یک هفته از تزریق آلوکسان، پر نوشی و پر ادراری مشاهده شد. همچنین سنجش قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر صورت گرفت. نمایان شدن قند خون بیش از۲۴۰mg/dl به وسیله دستگاه، نشان دهنده القا دیابت در حیوانات تحت مطالعه بود (Gupta *et al.*, 2005).

نمونه برداری خونی و بافتی

در انتهای آزمایش، حیوانات به وسیله زایلازین و کتامین بیهوش شدند. بعد از اطمینان از بیهوش‌شدن حیوان، پوست ناحیهٔ قفسه سینه رت‌های بیهوش باز شد و خون‌گیری از قلب انجام شد. سرم نمونه‌های خون به‌وسیله سانتریفیوژ، با سرعت ۱۳۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط، جدا شد. این سرم جهت سنجش هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون مورد استفاده قرار گرفت.

بافت تخمدان نیز برای مطالعات بافت شناسی خارج و جهت تثبیت بافت در محلول بوئن قرار داده شد.

تهیه مقاطع میکروسکوپی از بافت تخمدان

به‌منظور تهیه مقاطع میکروسکوپی، بعد از شست‌وشوی بافت تخمدان‌ها با سرم فیزیولوژی و تثبیت آنها مراحل مختلف پاساژ شامل آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی با پارافین توسط دستگاه پاساژ بافت انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شدند و با استفاده از میکروتوم برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. برش‌های بافتی با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

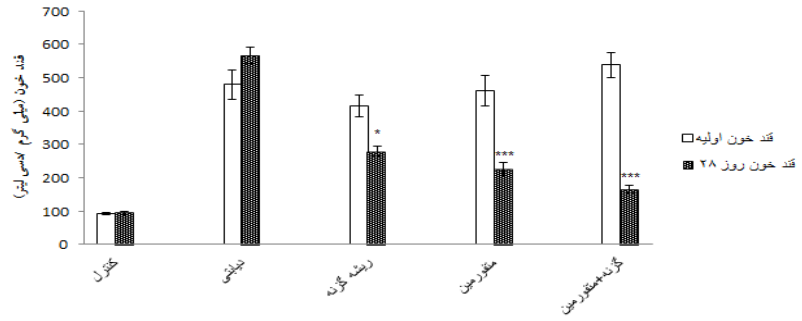
در بخش هورمون‌ها و تعداد فولیکول‌ها، داده‌های کمی با کمک نسخه۲۴ نرم‌افزار SPSS با استفاده ازآزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) وTukey (Mean±SE, P<0/05) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. هم‌چنین در بخش قند خون داده‌ها با نرم‌افزار instat تجزیه وتحلیل آماری شدند.

نتایج

سنجش قند خون

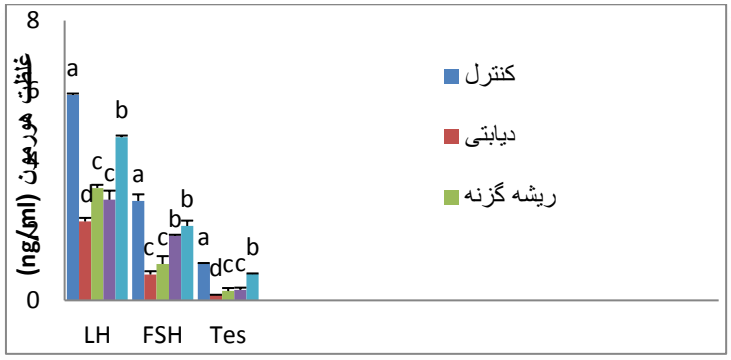
نتایج بررسی تأثیر متفورمین و عصاره ریشه گزنه به تنهایی و یا توام با یکدیگر بر میزان قند خون گروه های دیابتی شده مورد آزمایش در دو بازه زمانی الف) اولیه، یا روز اول ایجاد مدل و ب) روز ۲۸، پس از ۲۸ روز درمان به صورت زیر بود: تزریق درون صفاقی عصاره ریشه گزنه با دوز ۱۵۰mg/kg به مدت ۲۸ روز قند خون را درسطح معنی دار ۰/۰۵ کاهش داد اما معنی داری آن نسبت به استفاده از متفورمین، و نیز ریشه گزنه + متفورمین کمتر بود. به دنبال ۲۸ روز تجویز متفورمین با دوز ۱۵۰mg/kg به روش گاواژ، میزان قند خون در سطح معنی دار ۰/۰۰۱ کاهش یافت. از سوی دیگر تجویز توام ریشه گزنه و متفورمین هر یک به مقدار ۱۵۰mg/kg نیز میزان قند خون را در سطح معنی دار ۰/۰۰۱ کاهش داده بود. قند خون گروه اخیرنسبت به گروه درمان شده با متفورمین به میزان بیشتری کاهش پیدا کرده بود. بدین ترتیب نتایج نشان می‌دهند که تجویز توام متفورمین با عصاره ریشه گزنه باعث کاهش بیشتر قند خون نسبت به تجویز متفورمین و یا عصاره ریشه گزنه هر یک به تنهایی می شود (شکل۱).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]



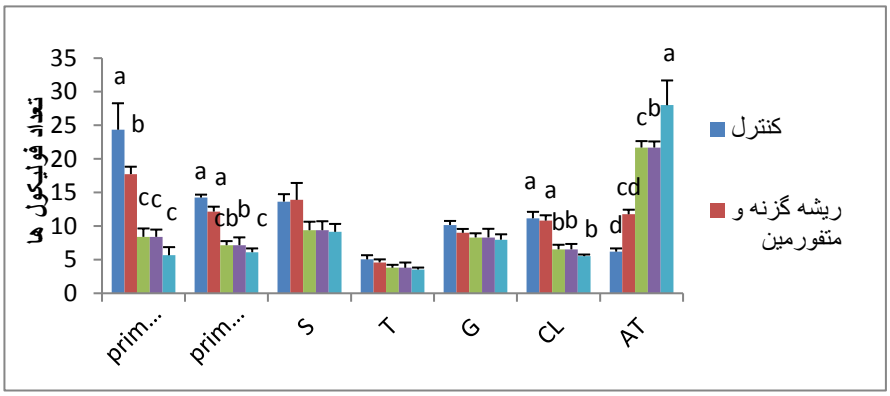
شکل ۱- مقایسه قند خون گروه های تجربی در دو بازه زمانی الف- روز اول (اولیه) ب- روز ۲۸. (N: 6, Mean±SE) * اختلاف معنی دار در سطح P<0.05 *** اختلاف معنی دار در سطح P<0.001

Fig. 1. Comparison of blood glucose of the experimental groups in a: first day b: 28 day. (N: 6, Mean±SE). * Significant difference in P<0.05; *** Significant difference in P<0.001



شکل ۲- مقایسه سطح سرمی هورمون‌هایLH، FSH و تستوسترون در گروه‌های تجربی. (N: 6, Mean±SE). حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌داری در سطح P<0.05 است.

Fig. 2. Comparison of serum level of LH, FSH, and Testosterone hormones in the experimental groups. (N: 6, Mean±SE), Different letters indicate significant differences at P<0.05.



شکل ۳- مقایسه تعداد فولیکول های بدوی (Pmo)، اولیه (Pma)، ثانویه (S)، ثالث (T)، گرآف (G)، آترتیک (A) وجسم زرد (CL) در گروه‌های تجربی. (N: 6, Mean±SE) حروف متفاوت نشان دهنده معنی داری در سطح P<0.05 است.

Fig. 3. Comparison of the number of primordial (Pmo), primary (Pma), secondary (S), third (T), Graff (G), atresia (A) follicles and corpus luteum (CL) in the experimental groups. (N: 6, Mean±SE) Different letters indicate significant differences at P<0.05.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

سنجش هورمون

در مطالعه حاضر هورمون های LH, FSH و تستوسترون سرم خون مورد سنجش قرار گرفت. داده ها نشان داد که غلظت سرمی هورمون LH در رت‌های دیابتی کاهش معنی داری نسبت به رت-های گروه کنترل داشته است. غلظت این هورمون در گروه های دریافت کننده متفورمین+ ریشه گزنه، متفورمین و ریشه گزنه در مقایسه با گروه دیابتی در سطح معنی دار $P<0.05$ افزایش داشت (شکل ۲). غلظت سرمی هورمون FSH نیز در رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل در سطح معنی دار $P<0.05$ کاهش داشت. افزایش غلظت این هورمون درگروه‌های دریافت‌کننده متفورمین+ عصارهٔ ریشهٔ گزنه، و متفورمین نسبت به گروه دیابتی معنی داربود اما در گروه دریافت کننده عصارهٔ ریشهٔ گزنه نسبت به گروه دیابتی معنی دار نبود (شکل ۲). هم چنین نتایج بدست آمده معلوم ساخت غلظت سرمی هورمون تستوسترون در رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل در سطح معنی دار $P<0.05$ کاهش داشته است، اما غلظت این هورمون در گروه های تحت درمان نسبت به گروه دیابتی در سطح معنی دار $P<0.05$ افزایش نشان داد (شکل ۲).

مقایسهٔ تعداد فولیکول‌های تخمدان

مقایسه تعداد فولیکول ها در گروه های مختلف آزمایشی نتایج زیر را معلوم ساخت. تعداد فولیکول های بدوی در گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت. از سوی دیگر، تعداد این فولیکول ها در گروه های تحت درمان در مقایسه با گروه دیابتی افزایش یافته بود. در گروه درمان شده با عصاره ریشه گزنه و گروه درمان شده با متفورمین این افزایش معنی دار نبود، اما در گروه درمان شده با عصاره ریشه گزنه+ متفورمین تعداد فولیکول های بدوی در مقایسه با گروه دیابتی در سطح معنی دار ۰,۰۵ افزایش نشان داد (شکل ۳). تعداد فولیکول های اولیه نیز در گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با گروه کنترل در سطح معنی دار ۰,۰۵ کاهش یافته بود. در گروه درمان شده با عصاره ریشه گزنه افزایش مشاهده شده معنی دار نبود اما در گروه درمان شده با متفورمین و عصاره ریشه گزنه+ متفورمین تعداد فولیکول های اولیه در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده در سطح معنی دار ۰,۰۵ افزایش نشان داد که معنی داری گروه درمان شده با عصاره ریشه گزنه+ متفورمین از گروه درمان شده با متفورمین بیشتر بود (شکل۳). نتایج هم چنین نشان داد که تعداد فولیکول های آترتیک در گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش داشته است. در گروه های درمان شده با عصاره ریشه گزنه، متفورمین و گروه درمان شده با عصاره ریشه گزنه+ متفورمین تعداد فولیکول های آترتیک در سطح معنی دار ۰,۰۵ کاهش پیدا کرده بود. معنی‌داری در گروه عصاره ریشه گزنه+ متفورمین نسبت به گروه درمان شده با عصاره ریشه گزنه و گروه درمان شده با متفورمین بیشتر بود (شکل ۳). تعداد جسم زرد نیز در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش پیدا کرده بود، درحالی‌که در گروه‌های تحت درمان تعداد جسم زرد در مقایسه با گروه دیابتی افزایشی را نشان داد. افزایش تعداد جسم زرد در گروه دریافت‌کننده متفورمین+ ریشهٔ گزنه معنی‌دار و در گروه‌های دریافت-کننده متفورمین و ریشهٔ گزنه به تنهایی معنی‌دار نبود (شکل ۳).

بحث

در مطالعه حا ضر تأثیرعصارهٔ ریشهٔ گزنه به عنوان مکمل داروی شیمیایی متفورمین در موش های صحرایی دیابتی القاء شده با آلوکسان تحت بررسی قرار گرفت. در این مطالعه تجویز آلوکسان به روش تزریق درون صفاقی باعث افزایش قند خون و القا دیابت شد. مطالعات انجام شده درموش های دیابتی از این فرضیه حمایت می کنند که ترکیبات آنتی اکسیدانی می توانند این پاتوژنز را بهبود بخشند، که این ممکن است ناشی از اثرات مستقیم این ترکیبات روی ترشح انسولین، پیشگیری از مرگ سلول های بتا یا حتی از طریق تنظیم ازدیاد سلول های بتا باشد(Pinent *et al.*, 2008). از اینرو این احتمال وجود دارد چنین ترکیباتی به تنهایی یا در ترکیب با سایر استراتژی های درمانی، داروهای مؤثرتری در مقابل شایعترین بیماری‌های دژنراتیو همانند دیابت باشند.

نتایج مطالعه اثر عصارهٔ برگ گزنه، گلیمی پیرید، متفورمین و ترکیبات آنها نشان داده است که عصارهٔ برگ گزنه، گلیمی پیرید، متفورمین و ترکیبات آنها، دررابطه با گروه دیابت، اثر کاهشی معنی داری در میزان قند خون داشته اند. اثرات مشاهده شده در گروه های توام عصارهٔ برگ گزنه با گلیمی پیرید و متفورمین بیش از هر یک از داروها به تنهایی بود (Mamta & Preeti, 2013). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می دهد درگروه متفورمین+ عصارهٔ ریشهٔ گزنه نسبت به گروه هایی که عصارهٔ ریشهٔ گزنه و متفورمین را به تنهایی دریافت کرده بودند، میزان قند خون کاهش بیشتری داشته است. از این رو ریشه گزنه می تواند همانند برگ های این گیاه به

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

عنوان مکمل متفورین خاصیت کاهش دهنده میزان قند خون را داشته باشد.

چنین نتیجه گیری می تواند به واسطه خاصیت آنتی اکسیدانی متفورمین به عنوان داروی کاهنده قند خون و از سوی دیگر خاصیت آنتی اکسیدانی عصارهٔ ریشهٔ گزنه با دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی تفسیر شود. فلاونوئیدها جذب گلوکز را با مهار کردن α-آمیلاز روده و α-گلوکوزیداز مهار می کنند (Ota & Ulrih, 2017). علاوه بر این، متفورمین از طریق چندین مکانیسم موجب کاهش سطح گلوکز خون می شود. این مکانیسم ها عبارتند از :کاهش جذب گلوکز، افزایش حساسیت به انسولین در کبد و عضله با مهار گلوکونئوژنز در کبد، و افزایش جذب و استفاده از گلوکز در سلول های عضلانی. متفورمین AMPK (آنزیم کلیدی تنظیم گلوکز و انرژی) را تحریک وAMPK جذب سلولی گلوکز، اکسیداسیون اسید های چرب و تنظیم انتقال دهنده گلوکز ۴ (GLUT4)، که فرآیند های متابولیک مهم در جذب انرژی هستند، را افزایش می‌دهد (Crasto *et al*., 2014).

مطالعه هیستومتری انجام شده بر روی بافت تخمدان نشان داد که هیپرگلایسمی بعد از ۲۸ روز باعث کاهش تعداد فولیکول های اولیه، بدوی و جسم زرد وافزایش تعداد فولیکول های آترتیک شده است. از سوی دیگر، درمان با متفورمین و عصاره ریشه گزنه، موجب افزایش تعداد فولیکول های در حال رشد و کاهش تعداد فولیکول های آترتیک در گروه های تحت درمان شده بود. تعداد فولیکول های بدوی در گروه دریافت کننده متفورمین+ عصاره ریشه گزنه افزایش معنی داری را نشان داد. حال آن که در گروه متفورمین و گروه عصاره ریشه گزنه این افزایش معنی دار نبود. فولیکول های اولیه نیز در گروه های دریافت کننده عصاره ریشه گزنه + متفورمین، گروه دریافت کننده متفورمین، و گروه دریافت کننده عصاره ریشه گزنه به طور معنی داری افزایش پیدا کرده بود. هم چنین افزایش جسم زرد در گروه دریافت کننده متفورمین+ عصاره ریشه گزنه معنی دار بود، این افزایش در گروه دریافت کننده متفورمین و گروه دریافت کننده عصاره ریشه گزنه معنی دار نبود.

اعتقاد بر این است که استرس اکسیداتیو عامل اصلی و اساسی اثر سوء دیابت بر عملکرد تخمدان هاست که می تواند آغاز کننده یا تسریع کننده آپوپتوز در سلول های تخمدان باشد (Nayki *et al*., 2016). کاهش استرس اکسیداتیو با تجویز آنتی اکسیدان ها می تواند سبب کاهش اثرات بالقوه مخرب رادیکال های آزاد اکسیژن و در نتیجه افزایش تعداد و کیفیت اووسیت ها و فولیکول ها و هم چنین مهار آپوپتوز فولیکول های تخمدان در این افراد شود (Liu *et al*., 2012 ; Ruder *et al*., 2008). فلاونوئیدها که از جمله ترکیبات آنتی اکسیدانی ریشه گزنه هستند (Abrol *et al*., 2005)، با تشکیل پیوندهای غیر کووالانت در لایه های چربی نزدیک به غشای پلاسمایی سلول، فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهند. فلاونوئیدها ممکن است با سر قطبی فسفولیپید ها در غشا ارتباط برقرار کنند و باعث افزایش ثبات غشا و در نتیجه محافظت از غشاء از آسیب اکسیداتیو شوند (Alanbaki *et al*., 2017).

مطالعه بر روی اثر عصارهٔ هیدروالکلی ریشهٔ گزنه بر فولیکولوژنز و هورمون های استروژن و پروژسترون نشان داد که عصارهٔ ریشهٔ گزنه، وزن تخمدان و تعداد فولیکول های تخمدان (اولیه، ثانویه، ثالثیه) را افزایش می‌دهد که اثرات مثبت این گیاه را در بهبود عملکرد تخمدان نشان می دهد(Kargar Jahromi *et al*., 2016).عصارهٔ ریشهٔ گزنه، با افزایش میزان خون رسانی به تخمدان ها و در نتیجه افزایش انتشار اکسیژن در سلول های گرانولوزا، آترزی در فولیکول های اولیه و ثانویه را کاهش می دهد (Abdi *et al*., 2013). ویتامین C یکی دیگر از اجزای عصارهٔ ریشهٔ گزنه است که بر فولیکولوژنز اثر می گذارد. محققان معتقدند که ویتامین C یک ماده کنترل کننده باروری در زنان است. آنها اهمیت اسیدآسکوربیک را در پروسه تولیدمثل تأیید کردند(Saffari *et al*., 2015). ویتامین C یکی از فعال‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌شود که باعث خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شود (Wolska *et al*., 2016). اثر ویتامین C بر استرس اکسیداتیو القایی در تخمدان موش صحرایی بررسی شده و مشخص شده است که ویتامین C باعث افزایش فولیکول های در حال رشد و فولیکول‌های بالغ می شود (Alkatib *et al*., 2012).

فاکتور دیگری که در این مطالعه مورد توجه قرار گرفت تغییرات هورمون های LH، FSH وتستوسترون بود. انسولین مهمترین تنظیم کننده محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد است. انسولین می تواند تقریبا به عنوان یک هموگنادوتروپین با اتصال به گیرنده های سلولی بر روی سطح تکا، گرانولوزا و استرومای تخمدان عمل کند. انسولین سنتز هورمون در سلول های گرانولوزا و توسعه فولیکولار را تحریک می کند (Akman *et al*., 2015). دیابت منجر به

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی در هیپوفیز به عنوان غده ترشح کننده گنادوترپین ها می شود که می تواند برمیزان هورمون های FSH و LH و باروری تأثیر بگذارد. میزان ترشح سطح سرمی این دو هورمون هم چنین به تعداد گیرنده های آنها نیز بستگی دارد. دیابت و استرس اکسیداتیو ناشی ازآن با افزایش سطح رادیکال های آزاد و با تأثیر برگیرنده های FSH و LH باعث کاهش سطح سرمی این هورمون ها می‌شود (Tirabassi *et al.*, 2016). در طول دیابت، کاهش سطح تستوسترون ممکن است به علت تغییرات در ترکیب بدن، پلی مورفیسم گیرنده های آندروژن، انتقال گلوکز و کاهش سطح آنتی اکسیدان ها باشد. در واقع ارتباط مستقیمی بین انسولین، تستوسترون و گنادوتروپین گزارش شده است. کاهش انسولین ترشح گنادوتروپین ها، هورمون های FSH و LH، را مهار می‌کند. این دو هورمون باعث تولید آندروژن ها از جمله تستوسترون می شوند. بنابراین، سطح پایین گنادوتروپین ها تولید تستوسترون را کاهش می دهد (Dkhil *et al.*, 2016).

متفورمین باعث بهبود حساسیت به انسولین(Woods *et al.*, 2009) افزایش سطح انسولین (Mosallanejad *et al.*, 2013) و محافظت از پانکراس در مقابل تخریب سلول بتا (Vukovic *et al.*, 2007) می شود. از سوی دیگر همان طور که گفته شد،گزنه دارای فلاونوئیدهای اصلی کورستین، روتین و کامفرول است (Nabrdalik & Grata, 2015). کورستین می تواند سطح گلوکز خون موش های دیابتی را به میزان نرمال کاهش دهد که این امر مربوط به توانایی آن برای بازسازی سلول‌های بتای پانکراس و افزایش انسولین آزاد است. کامفرول نیز به عنوان مهار کننده α-گلوکوزیداز، بهبود مقاومت به انسولین و هوموستاز گلوکز عمل می‌کند. روتین در فعالیتی مشابه با کورستین باعث جذب کلسیم در پانکراس از طریق کانال Ca^{+2} وابسته به ولتاژ می شودکه ممکن است بهبود تولید ATP در سلول های بتای پانکراس و افزایش فعال سازی رونویسی انسولین به وسیله سیگنالینگ (cAMP) را فراهم کند (Soares *et al.*, 2017). هم چنین تحقیق روی اثرات فلاونوئیدها بر میزان هورمون LH نشان می‌دهد که فلاونوئیدها باعث افزایش میزان هورمون LH در هیپوفیز قدامی در موش های صحرایی ماده در معرض استرس می‌گردند (Wang *et al.*, 1994). به علاوه فلاونوئیدها آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز را مهار کرده که تستوسترون را به دی هیدروتستوسترون تبدیل می‌کند. و باعث افزایش سطح تستوسترون می‌شوند (Azarneoshan *et al.*, 2009). نتایج مطالعه نشان می‌دهد که کورستین باعث افزایش قابل توجهی در میزان تستوسترون و LH و FSH می شود (Alanbaki *et al.*, 2017). اثر افزایشی کورستین برروی تستوسترون نیز تأیید شده است (Ma *et al.*, 2004).

نتیجه‌گیری

استفاده از عصارهٔ ریشهٔ گزنه با دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فلاونوئیدی، به عنوان مکمل متفورمین می‌تواند نقش مهمی در بهبود عوارض دیابت از جمله کاهش قند خون، بهبود شاخص‌های هورمونی، و فولیکول‌زایی داشته باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه خوارزمی جهت انجام تحقیق حاضر قدردانی می شود.

REFERENCES

Abdi, SH., Salehnia, M. and Hosseinkhani, S. 2013. Comparison of survival and developmental rates of mouse ovarian follicles after two and three dimensional cultures. – J. Modares Med. Sci. 16: 51-63.

Abrol, S.O., Trehan, A. and Katare, O.P. 2005. Comparative study of different silymarin formulations: formulation and in vitro/in vivo evaluation. – Curr. Drug Deliv. 2: 45-51.

Akiniola, O., Gabriel, M., Suleiman, A.A. and Olorunsogbon, F. 2012. Treatment of alloxan induced diabetic rats with metformin or glitazones is associated with amelioration of hyperglycaemia and neuroprotection. – Open Diabet. J. 5: 8-12.

Akman, L., Erbas, O., Akdemir, A., Yavasoglu, A., Taskiran, D. and Kazandi, M. 2015. Levetiracetam ameliorates ovarian function in streptozotocin induced diabetic rats. – Gynecol. Endocrinol. 31: 657-662.

Alanbaki, A.A., Mayali, H.M. and Mayali, H.K. 2017. The protective effect of quercetin and hesperidin on etoposide induced toxicity in male rats testicular. – JPSR 9: 1394-1405.

Alkatib, S.R., AlAzam, A.H.A. and Habeab, S.A. 2012.The effect of vitamin C on ovary of female white rats treated with kmno4. Histological and physiological study. – Kufa J. Vet. Med. Sci. 3: 1-16.

Azarneoshan, F., KhatamsazSaz, S. and Sadeghi, H. 2009. The effects of hydro alcoholic extract of doremaaucheri on blood concentration of gonadotropin and androgen hormones in adult rats. – Armaghane Danesh 14: 65-70.

Cho, K., Chung, J.Y., Cho, S.K., Shin, H.W., Jang, I.J., Park, J.W., Yu, K.S. and Cho, J.Y. 2015. Anti-hyperglycemic mechanism of metformin occurs via the

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

AMPK/LXRα/POMC pathway. – Sci. Rep. 5: 8145.

Coughlan, K., Valentine, R., Ruderman, N. and Saha, A. 2014. AMPK activation:a therapeutic target for type2 diabetes? – Diabet. Metab. Syndr. Obes. 7: 241-253.

Crasto, W., Rao, P. and Gleeson, H. 2014. The effect of metformin on reproduction–A short review. – J. Endocrinol. Diabet. Obes. 2: 1-7.

Dkhil, M.A., Zrieq, R., Al-Quraishy, S. and Abdel Moneim, A.E. 2016. Selenium nanoparticles attenuate oxidative stress and testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. – Molecules 21: 2-13.

Golalipour, M.J., Ghafari, S., Kouri, V. and Kestkar, A.A. 2010. Proliferation of the β-cell pancreas in diabetic rats treated with urtica dioica. – Int. J. Morphol. 28: 399-404.

Gupta, R.K., Kesari, A.N., Murthy, P.S., Chandra, R., Tandon, V. and Watal, G. 2005. Hypoglycemic and antidiabetic effect of ethanolic extract of leaves of Annona squamosa L. in experimental animals. – J. Ethnopharma. 99 :75-81.

Hunt, L.M., Arar, N.H. and Akana, L.L. 2000. Herbs, prayer, and insulin: use of medical and alternative treatments by a group of Mexican-American diabetic patients. – J. Fam. Pract. 49: 216-223.

Kargar Jahromi, H. and Karimi Jashni, H. 2016. Effect of nettle root extract on folliculogenesis and estrogen and progesterone hormones in rats. – IJBR 7: 533-538.

Khidr, B.M., El-Sokkary, G.H. and Saleh, S.M. 2017. Study on morphological changes induced by aspartame on liver of normal and diabetic male albino rats. – Histol. Histopathol. 4: 1-8

Liu, J., Liu, M., Ye, X., Liu, K., Huang, J., Wang, L., Ji, G., Liu, N., Tang, X., Baltz, J.M., Keefe, D.L. and Liu, L. 2012. Delay in oocyte aging in mice by the antioxidant N-acetyl-L-cysteine (NAC). – Hum. Reprod. 27: 1411-1420.

Ma, Z., Nguyen, T.H., Huynh, T.H., Do, P.T. and Huynh, H. 2004. Reducti on of rat prostate weight by combined quercetin–finasteride treatment is associated with cell cycle deregulation. – J. Endocrinol. 181: 493-507.

Mamta, S. and Preeti, K. 2013. Interacting effect of co-administration of Urtica dioica leaf extract with two oral antidiabetic agents (glimepiride and metformin) in streptozotocin and DNA induced diabetic rats. – IJUPBS 2: 326-335.

Mosallanejad, B., Avizeh, R., Najafzadeh Varzi, H. and Pourmahdi, M. 2013. A comparison between metformin and garlic on alloxan-induced diabetic dogs. – Comp. Clin. Path. 22: 169-174.

Mukundi, M.J., Mwaniki, N.EN., Piero, N.M., Murugi, N.J. and Kelvin, J.K. 2017. Potential anti-diabetic effects and safety of aqueous extracts of urtica dioica collected from narok county, Kenya. – Pharm. Anal. Acta 8: 2-8.

Nabrdalik, M. and Grata, K. 2015. Assessment of antifungal activity of extracts from nettle (*Urtica dioica* L.) against *Alternaria solani*. – PECO 9: 474-481.

Nathan, DM., Buse, JB., Davidson, MB., Ferrannini, E., Holman, RR. and Sherwin, R. 2009. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. – Diabet. Care. 32: 193-203.

Nayki, U., Onk, D., Balci, G., Nayki, C., Onk, A. and Gunay, M. 2016. The effects of diabetes mellitus on ovarian injury and reserve: an Experimental study. – Gynecol. Obstet. Invest. 81: 424-429.

Ota, A. and Ulrih, N.P. 2017.An overview of herbal products and secondary metabolites used for management of type two diabetes. – Front Pharmacol. 6: 1-14.

Pinent, M., Castell, A., Baiges, I., Montagut, G., Arola, L. and Ardevol, A. 2008. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. – Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 7: 299-308.

Ruder, E.H., Hartman, T.J., Blumberg, J., and Goldman, M. 2008. Oxidative stress and antioxidants: Exposure and impact on female fertility. – Hum. Reprod. Update 14: 345-357.

Saffari, S., Bahadori, M.H., Sharami, SH., Torabzadeh, P. and Goudarzvand, M. 2015. The relationship between level of vitamin C in follicular fluid and maturation of oocytes and embryo quality in patients undergoing invitro fertilization. – JBUMS 17: 22-27.

Salemi, Z., Rafie, E., Taghi Goodarzi, M. and Ghaffari, M. 2016. Effect of metformin, acarbose and their combination on the serum visfatin level in nicotinamide/ streptozocin-induced type 2 diabetic rats. – Iran. Red Crescent Med. J. 18: e23814.

Soares, J.M.D., Pereira Leal, A.E.B., Silva, J.C., Almeida, J.R.G.S. and de Oliveira, H.P. 2017. Influence of flavonoids on mechanism of modulation of insulin secretion. – Pharmacog. Mag. 13: 639-646.

Song, R. 2016. Mechanism of metformin: A Tale of Two Sites. – Diabet. Care. 39:187-189.

Tirabassi, G., Chelli, F.M., Ciommi, M., Lenzi, A. and Balercia, G. 2016. Influence of the hypothalamicpituitary-adrenal axis dysregulation on the metabolic profile of patients affected by diabetes mellitus associated late onset hypogonadism. – Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 26: 53-59.

Unal, D., Aksak, S., Halici, Z., Sengul, O., Polat, B. and Unal, B. 2011. Effects of diabetes mellitus on the rat liver during the postmenopausal period. – J. Mol. Histol. 42: 273-287.

Vukovic, M., Lapcevic, M., Kalezic, N. and Gvozdenovic, B.S. 2007. The effect of metformin on fasting and postprandial insulin secretion in obese patients with diabetes mellitus type 2. – Srp. Arh. Celok. Lek. 135: 447-52.

Wang, C., Makela, T. and Adlercreutz, H. 1994. Lignans flavonoids inhibit aromataz in human prediadiposit. – J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 50: 205-212.

Wolska, J., Czop, M., Jakubczyk, K. and Janda, K. 2016. Influence of temperature and brewing time of nettle (*Urtica dioica* L.) infusions on vitamin C content. – Rocz. Panstw. Zakl. Hig. 67: 367-371.

Woods, Y.L., Petrie, J.R. and Sutherland, C. 2009. Dissecting insulin signaling pathways: Individualized therapeutic targets for diagnosis and treatment of insulin resistant states. – Endocr. Metab. Immun. Disord. Drug Targets 9: 187-198.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]

*****

How to cite this article:

Esfadeh, H., Mirabolghasemi, G. and Azarnia, M. 2019. The joint effect of hydroalcoholic extract of nettle root and metformin on ovarian tissue of diabetic model of Wistar rat. – Nova Biol. Reperta 6: 131-139

اسفده، ح.، میرابوالقاسمی، غ. و آذرنیا، م. ۱۳۹۸. تأثیرتوأم عصارهٔ هیدروالکلی ریشهٔ گزنه و متفورمین بر بافت تخمدان مدل دیابتی موش صحرایی نژاد ویستار۶: ۱۳۹-۱۳۱.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.10.7]

[DOI: 10.29252/nbr.6.2.131]