

Effect of hydro-alcoholic extract of yellow horned poppy (*Glaucium flavum*) on serum concentration of glucose and lipid profile and weight changes in alloxan induced diabetic rats

Darya GHH¹, Nowroozi-Asl A², Khoshvaghti A³, Rahmani Moghaddam E⁴, Musavi SM⁵

1. Doctor of Veterinary Medicine, Young Researchers and Elites Club, Islamic Azad University, Kazerun, Iran, (Corresponding Author) Email: gh-darya88@gmail.com.

2. Associate Professor of Veterinary Internal Medicine, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

3. Associate Professor of Clinical Pathology, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

4. MSc Student, Department of Anatomical Science, Student Research Committee, Shiraz University of Medical Science, Shiraz, Iran.

5. Doctor of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.

ABSTRACT

Background & Aim: Yellow horned poppy is known as an antidiabetic drug in Iran folk medicine. This study was conducted to compare the effect of yellow horned poppy and glibenclamide on blood glucose concentration, blood lipid profile and weight of alloxan-induced diabetic rats.

Materials & Methods: 40 male rats were randomly divided into five groups of eight: 1) healthy control 2) healthy treated with 500 mg/kg of body weight (BW)/day of the extract 3) diabetic control 4) diabetic treated with 500 mg/kg of BW/day of the extract 5) diabetic treated with 5 µg/kg of BW/day of glibenclamide. Diabetes induced in the 3rd, 4th and 5th groups by intraperitoneal injection of 120 mg/kg BW of alloxan. The weight of rats was measured after 1, 14 and 28 days. After a month, animals were euthanized and blood samples collected to measure serum levels of fasting blood glucose, triglyceride, cholesterol and lipoproteins including: HDL-C and LDL-C by an auto-analyzer. Data analysis was performed by repeated measure Anova, one way Anova and Tukey test.

Results: We found a significant decrease in glucose concentration in the diabetic+extract group compared to the diabetic control ($P<0.001$), this decrease was significantly lower than that in the diabetic+drug group ($P=0.03$). Triglyceride, cholesterol and LDL concentrations in the diabetic+extract group showed a significant decrease compared to those in the diabetic control group ($P<0.001$). Significant increase in HDL concentration was observed in the diabetic+extract group compared to that in the diabetic control group ($P<0.001$).

Conclusion: The present study showed antidiabetic effect of yellow horned poppy in the rats which is comparable to the effect of glibenclamide.

Keywords: Diabetes mellitus, *Glaucium flavum*, FBS, Lipid profile, Rat, Alloxan

Received: Jan 10, 2019

Accepted: Jan 29, 2019

How to cite the article: Darya GHH, Nowroozi-Asl A, Khoshvaghti A, Rahmani Moghaddam E, Musavi SM. Effect of hydro-alcoholic extract of yellow horned poppy (*Glaucium flavum*) on serum concentration of glucose and lipid profile and weight changes in alloxan induced diabetic rats. SJKU 2019; 24 (1): 45-55.

تأثیر عصاره هیدروالکلی شقایق کوهی (*Glaucium flavum*) بر غلظت سرمی گلوکز و الگوی چربی

و تغییرات وزنی موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان

غلامحسین دریا^۱، اردوان نوروزی اصل^۲، آمنه خوشوقتی^۳، ابراهیم رحمانی مقدم^۴، سیده مریم موسوی^۵

۱. دکتری حرفه ای دامپزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران، (نویسنده مسئول) ایمیل: ghhdarya88@gmail.com
۲. دانشیار بیماری‌های داخلی دامپزشکی، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.
۳. دانشیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۵. دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: گیاه شقایق کوهی در طب سنتی ایران برای کاهش عوارض دیابت استفاده می‌شود. این مطالعه برای مقایسه اثر گیاه شقایق کوهی و داروی گلبین کلامید بر میزان غلظت گلوکز خون، نمایه لیپیدهای خون و وزن موش‌های صحرایی دیابتی القاء شده با آلوکسان صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: چهل سر موش صحرایی نر به طور تصادفی به پنج گروه هشتایی تقسیم شدند: شاهد سالم، سالم تیمار با عصاره با دوز روزانه ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره با دوز روزانه ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، دیابتی تیمار با داروی گلبین کلامید با دوز روزانه ۵ میکروگرم بر کیلوگرم. پس از القاء دیابت، در روزهای اول، پانزدهم و سی‌ام وزن‌کشی از حیوانات انجام شده و نمونه‌های خون جهت اندازه‌گیری غلظت گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول، HDL-C و LDL-C جمع‌آوری گردید. در پایان نتایج با آنالیز واریانس با اندازه‌های تکراری و آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی tukey مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: علی‌رغم کاهش معنی‌دار در غلظت گلوکز در گروه دیابتی+عصاره نسبت به گروه شاهد دیابتی ($P<0/001$)، اما این کاهش به طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی+دارو بود ($P=0/03$). غلظت تری گلیسیرید، کلسترول و LDL در گروه دیابتی+عصاره نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهشی معنی‌دار نشان داد ($P<0/001$). همچنین افزایش معنی‌دار در غلظت HDL در مقایسه گروه دیابتی+عصاره با شاهد دیابتی مشاهده شد ($P<0/001$).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر ضمن اثبات اثر ضد دیابتی گیاه شقایق کوهی در موش‌های صحرایی، این اثر را با داروی گلبین کلامید قابل قیاس می‌داند.

واژه‌گان کلیدی: دیابت، شقایق کوهی، گلوکز خون، الگوی چربی، موش صحرایی، آلوکسان

وصول مقاله : ۹۷/۹/۲۱ اصلاحیه نهایی: ۹۷/۱۱/۹ پذیرش: ۹۷/۱۱/۹

مقدمه

دیابت ملیتوس به گروهی از بیماری ها گفته می شود، که غلظت بالای قند خون در نتیجه ی نارسایی در ترشح انسولین، کارکرد انسولین یا هر دو رخ می دهد. در این بیماری ناهنجاری در سوخت و ساز (متابولیسم) کربوهیدرات، پروتئین و چربی، نیز وجود دارد. بدن افراد مبتلا به دیابت توانایی تولید انسولین یا پاسخ به انسولین را ندارد. حضور انسولین برای استفاده یا ذخیره سوخت های بدن ضروری است. در نبود انسولین مؤثر، هیپرگلیسمی (قند خون بالا) به وجود می آید، که می تواند به عوارض جدی و مرگ زودرس منجر شود (۱). کنترل وزن، مهم ترین هدف برای افراد چاق مبتلا به دیابت است. رژیم های غذایی پر کربوهیدرات، پرفیبر و با چربی حیوانی کم، در کنترل قند و لیپید خون و وزن اهمیتی ویژه دارند. به دلیل خطر بالای ابتلا به بیماری قلبی-عروقی (CVD) (Cardiovascular Disease)، افراد دیابتی باید یک رویه (استراتژی) پیشگیرانه برای طبیعی کردن لیپیدهای سرم و به حداقل رساندن دیگر عوامل خطر، مانند اضافه وزن، نداشتن فعالیت بدنی، پرفشاری خون و استرس اکسیداتیو در پیش گیرند (۱). ممکن است دیابت در آغاز با هیپرگلیسمی علامت دار یا یک عارضه ناشی از هیپرگلیسمی شدید، کتواسیدوز یا هیپرلیپیدمی شدید تظاهر پیدا کند. بیشتر علائم دیابت با هیپرگلیسمی یا تجمع گلوکز در بافت های گوناگون در ارتباط است (۲).

گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنها تا کنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نشده است (۳). در طی ۱۰ تا ۲۰ سال گذشته تحقیقات آزمایشگاهی و همچنین بالینی متعددی روی گیاهان دارویی مورد استفاده در درمان دیابت انجام گرفته که در تعدادی از آنها اثرات قابل ملاحظه ای در کاهش قند خون بیماران دیابتی مشاهده شده است .

گونه شقایق کوهی (*Glaucium flavum*) که به شقایق شاخدار زرد (Yellow Horne Puppy) و یا کلاتین (نام بومی و معروف در میان افراد محلی در کازرون و برخی دیگر از مناطق جنوب ایران) معروف است، مربوط به تیره ی شقایقیان (Papaveraceae family) از راسته ی آللاهسانان می باشد (۴). بخش های وسیعی از غرب و جنوب غربی ایران نیز علاوه بر کوهستانی بودن جز مناطق کم بارش مدیترانه ای محسوب می شود که واجد شرایط ایده ال برای رشد و گسترش انواع گیاهان خانواده شقایقسانان و از جمله این گونه است (۵). این گیاه سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی همچون آپورفین (Aporphine)، پروتوپین (Protopine) و پروتوبربرین (Protoberberine) (۶) بوده که در این میان گلوسین (Glaucine) از زیر خانواده آپورفین مهمترین ترکیب آلکالوئیدی آن است (۶). از ترکیبات آلکالوئیدی این گیاه به طور گسترده در صنعت داروسازی به عنوان مسکن، ضد احتقان و ضد سرفه بهره برداری می شود (۷). تحقیقات اخیر نیز خواص آنتی-اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد ویروسی را به کاربردهای احتمالی این گیاه دارویی افزوده است (۸ و ۹). پیش تر قابلیت کاهندگی قند خون برای این دارو در خرگوش های سالم مطالعه و مورد تأیید قرار گرفته بود (۱۰). بر این اساس مطالعه حاضر جهت تعیین خواص ضد دیابتی و خواص کاهنده فاکتورهای لیپیدی عصاره هیدروالکی شقایق کوهی در موش های صحرایی نر بالغ مبتلا به دیابت القایی توسط دوز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از آلوکسان، در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون صورت پذیرفت.

روش بررسی

۱. جمع آوری گیاه

نمونه های گیاه شقایق کوهی در اوایل فصل بهار از مراتع اطراف شهرستان کازرون جمع آوری شدند. اندام های هوایی و گل های گیاه بعد از خشک شدن در مجاورت تابش نور

محدودیت غذایی اعمال گردید (۱۲). بعد از گذشتن سه روز از تزریق آلوکسان، درحالت ناشتا با کمک دستگاه اندازه گیری قند (کره جنوبی، Easygluco) قند خون را اندازه گیری کرده بدین صورت که ابتدا نوار easygluco را در دستگاه گذاشته، با کمک تیغ دم موش‌ها را خراش داده و یک قطره از خون موش را روی نوار قرار داده و میزان قند خون از روی مانیتور دستگاه خوانده شد. قند خون‌های بیش از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان دیابتی تلقی می‌شد. پس از اطمینان از دیابتی شدن حیوانات (با علائم پراداری، پرخونی و کاهش وزن و قند خون بالا) مصرف عصاره آبی-الکلی شقایق کوهی آغاز شد.

۴. نمونه‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی

وزن‌کشی: جهت بررسی تاثیر احتمالی عصاره گیاه شقایق کوهی بر وزن حیوانات، پیش از آغاز آزمایش، در نیمه دوره (روز پانزدهم) و پیش از پایان دوره (روز سی‌ام) همه موش‌ها توزین شده و مشخصات وزنی آنها یادداشت گردید.

خون‌گیری: در پایان، حیوانات به کمک ماده بیهوش کننده اتر (ساخت شرکت کیمیا مواد، ایران) بیهوش شده و سپس به کمک سرنگ ۵ سی سی خون‌گیری از ناحیه بطن راست قلب صورت گرفت. خون گرفته شده جهت تهیه سرم را در دستگاه سانتریفیوژ (مدل Sigma301 laborzentrifugen gmb ساخت آلمان) با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سرم آن به وسیله پیپت پاستور جدا و تا زمان انتقال آنها به آزمایشگاه جهت سنجش فاکتورهای مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز (روش آنزیماتیک)، کلسترول پلاسما به روش کلسترول اکسیداز (آنزیماتیک)، تری گلیسیرید به روش آنزیماتیک (آنزیم پراکسیداز) اندازه گیری شد.

در آسیاب برقی پودر گردیده و جهت تهیه عصاره به آزمایشگاه انتقال داده شد. پودر حاصله را به نسبت ۵۰/۵۰ با آب و الکل اتانول ۹۶ درصد و به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و سپس آن را صاف نموده و در مرحله آخر در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد گذاشته شد تا آب و الکل تبخیر گردیده و یک شیره قهوه ای غلیظ باقی ماند. از ۱۰۰۰ گرم وزن خشک گیاه ۱۰۰ گرم عصاره خالص به دست آمد. به منظور تهیه سوسپانسیون خوراکی عصاره حاصل با سرم فیزیولوژی ترکیب شده و روزانه با کمک گاواژ به حیوانات خورانده شد (۱۱).

۲. گروه بندی حیوانات

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ به مدت ۳۰ روز انجام شده است. در تمامی مراحل انجام این پژوهش مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قانون مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات مورد استفاده در این پژوهش ابتدا وزن شده و در خزانه جداگانه قرار داده شدند و میانگین وزنی در حدود ۲۰۰-۲۵۰ گرم بود. حیوانات به طور تصادف به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شده اند: گروه اول: شاهد سالم، گروه دوم: سالم تیمار شده با عصاره خوراکی شقایق کوهی با دوز روزانه ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تا سی روز، گروه سوم: شاهد دیابتی، گروه چهارم: دیابتی درمان شده با عصاره مذکور با دوز روزانه ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تا سی روز و نهایتاً گروه پنجم: دیابتی هایی که با داروی گلین کلامید با دوز روزانه ۵ میکروگرم بر کیلوگرم طی مدت مشابه تحت درمان قرار گرفتند.

۳. روش القای دیابت تجربی

برای دیابتی کردن موش‌های صحرایی قبل از انجام آزمایش، از تزریق داخل صفاقی آلوکسان منوهیدرات (Sigma Alderich، آمریکا) به مقدار ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده گردید. لازم به ذکر است که به منظور افزایش اثر گذاری در القا دیابت یک دوره هشت ساعته

اندازه گیری LDL-C با استفاده از فرمول فریدوال و HDL-C به روش کالریمتریک (کلسترول آنزیماتیک) محاسبه شدند (۱۳).

اندازه گیری ها همگی با کیت ها استاندارد (شرکت پارس آزمون، ایران) و با کمک دستگاه اتوآنالایزر تمام اتوماتیک (Technicon RA-1000) صورت پذیرفت.

۶. آنالیز آماری

تعیین روابط معنی داری برای تغییرات وزن با بهره گیری از آزمون Repeated measure و فاکتورهای قند خون، تری گلیسیرید، کلسترول، LDL-C و HDL-C از آزمون آنووا و تست تعقیبی tukey همگی در نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و مقادیر به دست آمده به صورت (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

گزارش گردید. همچنین $P < 0.05$ به عنوان ملاک معنی دار بودن اختلاف بین گروه ها در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تغییرات قند خون: در مقایسه با گروه شاهد سالم، گروه های شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره و دیابتی تیمار با دارو افزایش معنی داری را در سطح ($P < 0.001$) نشان دادند. در مقایسه گروه سالم تیمار با عصاره نیز هر سه گروه شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره و دیابتی تیمار با دارو افزایش معنی داری در سطح ($P < 0.001$) داشتند. از سویی تفاوت گروه شاهد دیابتی با تمام گروه های دیگر در سطح ($P < 0.001$) معنی دار بوده است. نهایتاً گروه دیابتی تیمار با دارو کاهش معنی دارتری نسبت به گروه دیابتی تیمار با عصاره نشان شد ($P = 0.03$) (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه تغییرات قند خون (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در میان ۵ گروه ($n=8$)

گروه ها					فاکتور
شاهد سالم	سالم تیمار با عصاره	شاهد دیابتی	دیابتی تیمار با عصاره	دیابتی تیمار با دارو	
۱۲۰/۷۵ $\pm$ ۶/۴۸	۱۰۵/۸۸ $\pm$ ۳/۱۶	۴۶۷/۷۵ $\pm$ ۱۱/۳۲	۱۹۵/۸۸ $\pm$ ۵/۶۸	۱۷۸/۵ $\pm$ ۵/۷۵	قند خون (FBS) mg/dl
a*b*c*d	a*b*c*	a*b*			

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه: حروف لاتین بیان گر روابط معنی داری در سطح ($P < 0.05$)، a: تفاوت معنی دار با شاهد سالم، b: تفاوت معنی دار با سالم تیمار، c: تفاوت معنی دار با شاهد دیابتی، d: تفاوت معنی دار با دیابتی تیمار با عصاره، علامت * بیان گر تفاوت معنی دار در سطح ($P < 0.001$)

نتایج مربوط به تغییرات غلظت لیپیدها و لیپو پروتئین های خون

میانگین غلظت تری گلیسیرید در گروه شاهد سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه سالم تیمار با عصاره بود ($P = 0.028$)، گروه دیابتی با تمام گروه ها تفاوت معنی دار در سطح ($P < 0.001$) داشت. گروه دیابتی تیمار با عصاره فاقد تفاوت معنی دار با گروه شاهد سالم بود ($P > 0.05$) همچنین گروه دیابتی تیمار با عصاره به طور معنی داری

میانگین های کمتر از گروه دیابتی تیمار با دارو داشت ($P = 0.001$) (جدول ۲)

در بررسی تغییرات کلسترول، گروه شاهد سالم فاقد تفاوت معنی دار با گروه های سالم تیمار با عصاره و دیابتی تیمار با عصاره بود ($P > 0.05$). گروه شاهد دیابتی نیز با تمام گروه ها در سطح ($P < 0.001$) تفاوت معنی دار نشان داد. نهایتاً، اعداد بدست آمده برای گروه دیابتی تیمار با عصاره به طور

معنی داری کمتر از گروه دیابتی تیمار با دارو بود ($P=0/009$) (جدول ۳).

میانگین غلظت HDL سرمی در گروه شاهد سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه سالم تیمار با عصاره بود ($P=0/013$). درحالی که گروه شاهد دیابتی با گروه دیابتی تیمار با دارو تفاوت معنی داری نداشت ($P>0/05$). گروه دیابتی تیمار با عصاره نیز به طور معنی داری کمتر از گروه دیابتی تیمار با دارو بود ($P=0/027$) (جدول ۲).

میانگین سطوح سرمی LDL در گروه سالم تیمار با عصاره به طور معنی داری کمتر از گروه شاهد سالم بوده است ($P=0/003$)، همچنین گروه شاهد سالم فاقد رابطه معنی دار با گروه دیابتی تیمار با عصاره بود ($P>0/05$). و نیز در مقایسه گروه دیابتی تیمار با عصاره با گروه دیابتی تیمار با دارو کاهش معنی دار بوده است ($P<0/001$) (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه تغییرات الگوی چربی های خون (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در میان ۵ گروه ($n=8$)

گروه ها					فاکتورهای
سالم شاهد	سالم تیمار با عصاره	شاهد دیابتی	دیابتی تیمار با عصاره	دیابتی تیمار با دارو	لیپیدی
۷۶/۶۲ $\pm$ ۳/۲۵	۵۸/۶۲ $\pm$ ۴/۰۵	۲۳۵/۶۲ $\pm$ ۱۳/۸۲	۹۲/۵۰ $\pm$ ۸/۴۵	۱۴۹/۲۵ $\pm$ ۹/۹۶	TG
		a*b*	c*	a*b*c*d	
۶۰/۵۰ $\pm$ ۲/۲۹	۵۱/۰۰ $\pm$ ۲/۶۵	۱۵۵/۸۷ $\pm$ ۷/۱۶	۷۲/۱۲ $\pm$ ۴/۰۹	۹۷/۳۷ $\pm$ ۴/۶۸	Chol
		a*b*	bc*	a*b*c*d	
۲۰/۶۲ $\pm$ ۰/۹۹	۲۶/۷۵ $\pm$ ۱/۵۶	۱۷/۵۰ $\pm$ ۰/۸۶	۲۵/۷۵ $\pm$ ۱/۳۳	۲۰/۱۲ $\pm$ ۱/۴۳	HDL
	a	a*b*	c*	b*d	
۳۱/۳۷ $\pm$ ۱/۸۶	۱۹/۲۵ $\pm$ ۱/۶۲	۸۱/۶۲ $\pm$ ۳/۰۹	۲۹/۵۰ $\pm$ ۱/۳۳	۴۶/۳۷ $\pm$ ۲/۲۹	LDL
	a	a*b*	bc*	a*b*c*d*	

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه: حروف لاتین بیان گر روابط معنی داری در سطح ($P<0/05$)، a: تفاوت معنی دار با شاهد سالم، b: تفاوت معنی دار با سالم تیمار، c: تفاوت معنی دار با شاهد دیابتی، d: تفاوت معنی دار با دیابتی تیمار با عصاره، علامت * بیان گر تفاوت معنی دار در سطح ($P<0/001$)

نتایج تغییرات وزن در سه مرتبه وزن کشی در گروه سالم تیمار با عصاره حاکی از کاهش معنی دار وزن در روزهای پانزدهم ($P=0/004$) و روز سی ام ($P<0/001$) نسبت به روز اول بود. از سویی دیگر کاهش وزن در گروه دیابتی در روز پانزدهم نسبت به روز اول معنی دار نبود ($P>0/05$)، در حالی که در مقایسه روزهای اول و سی ام کاهش معنی داری ظاهر شد ($P<0/001$). در گروه دیابتی تیمار با دارو در مقایسه روزهای اول و پانزدهم کاهش معنی دار بود ($P=0/001$) همچنین در مقایسه روزهای اول و سی ام و نیز

پانزدهم و سی ام کاهش مشاهده شده به صورت معنی دار بود ($P<0/001$) (جدول ۳). از منظری دیگر با مقایسه تمامی گروه ها در روز سی ام، نشان می دهد، کاهش وزن مشاهده شده در هر دو گروه دیابتی تیمار با عصاره و دارو نسبت به گروه شاهد سالم معنی دار بوده است ($P<0/001$). اما علی رغم کاهش وزن، میانگین بدست آمده از گروه دیابتی تیمار با عصاره همچنان به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد دیابتی بوده است ($P=0/01$).

در نهایت در مقایسه دو گروه دیابتی تیمار با عصاره و دارو تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (جدول ۴).

جدول ۳: مقایسه تغییرات وزن (میانگین $\pm$ انحراف معیار) برحسب سه روز وزن کشتی در هر گروه مجزا در ۵ گروه ($n=8$)

گروه هـ

روز نمونه گیری	شاهد سالم	سالم تیمار با عصاره	شاهد دیابتی	دیابتی تیمار با عصاره	دیابتی تیمار با دارو
روز ۱	$234/5 \pm 5/7$	$229/125 \pm 15/6$	$230/375 \pm 8/76$	$231/5 \pm 7/15$	$225/5 \pm 9/69$
روز ۱۵	$240/57 \pm 9/24$	$233/625 \pm 17/08$	$219/25 \pm 11/53$	$229/5 \pm 6/41$	$214/87 \pm 12/76$ a
روز ۳۰	$250 \pm 10/49$	$234/125 \pm 19/85$	$187/75 \pm 10/68$	$220/75 \pm 7/2$	$210/5 \pm 16/87$ a*
	ab*	a*b	ab	ab	

نتایج آزمون آماری آنالیز Repeated measure: حروف لاتین بیانگر روابط معنی داری (در سطح $P < 0.05$)

a: بیانگر تفاوت با روز ۱ و b: بیانگر تفاوت با روز ۱۵

علامت * بیانگر تفاوت در سطح ($P < 0.001$)

جدول ۴: مقایسه تغییرات وزن (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در میان تمام گروه‌ها در هر روز وزن کشتی در ۵ گروه ($n=8$)

متغیر مورد مطالعه	روز نمونه گیری	گروه هـ				
		شاهد سالم	سالم تیمار با عصاره	شاهد دیابتی	بدیابتی تیمار با عصاره	دیابتی تیمار با دارو
وزن برحسب گرم	روز ۱	$234/5 \pm 5/7$	$229/125 \pm 15/6$	$230/375 \pm 8/76$	$231/5 \pm 7/15$	$225/5 \pm 9/69$
	روز ۱۵	$240/57 \pm 9/24$	$233/625 \pm 17/08$	$219/25 \pm 11/53$	$229/5 \pm 6/41$	$214/87 \pm 12/76$ a
	روز ۳۰	$250 \pm 10/49$	$234/125 \pm 19/85$	$187/75 \pm 10/68$	$220/75 \pm 7/2$	$210/5 \pm 16/87$ a*bc
				a*b*	a*c*	

آنالیز واریانس یک طرفه: حروف لاتین بیانگر تفاوت معنی داری در سطح ($P < 0.05$), a: تفاوت معنی دار با گروه شاهد

سالم, b: تفاوت معنی دار با گروه سالم تیمار با عصاره, c: تفاوت معنی دار با گروه شاهد دیابتی, d: تفاوت معنی دار با

گروه دیابتی تیمار با عصاره

علامت * تفاوت در سطح ($P < 0.001$)

بحث

دیابت ملیتوس یکی از مشکلات شایع پزشکی در تمام کشورها می باشد. طبق گزارش انجمن دیابت ایران بیش از ۸ درصد جمعیت کشور مبتلا به دیابت بوده و آمار مبتلایان به این بیماری در ایران بیش از سه میلیون نفر می باشد (۱۳). هرچند که در حال حاضر درمان اصلی و موثر برای دیابت ملیتوس استفاده از انسولین و داروهای هایپوگلیسمیک می باشد؛ ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعدد نیز می باشند (۱۴). امروزه با توجه به اثرات جانبی داروهای شیمیایی مطالعه بر روی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی با هدف رسیدن به داروهای جدید در اولویت قرار دارد.

در این مطالعه تأثیر مصرف روزانه دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن بدن از عصاره آبی-الکلی گیاه شقایق کوهی در قیاس با دوز ۵ میکروگرم بر کیلوگرم بر حسب وزن بدن از داروی ژنریک گلیبن کلامید بر تغییرات وزن و سطوح سرمی قند خون ناشتا (FBS)، لیپیدهای (TG و Cholesterol) و نیز لیپوپروتئین های HDL-C و LDL-C در موش های نر دیابتی شده با آلوکسان در بازه یک ماهه مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی تأثیر عصاره آبی-الکلی شقایق کوهی بر وزن بدن: با توجه به جدول ۱ می توان چنین نتیجه گیری کرد که القای دیابت توسط آلوکسان موجب کاهش وزن بدن حیوانات می شود، که این یافته با توجه به آنکه یکی از علائم دیابت کاهش وزن علی رغم اشتها مناسب است، قابل انتظار می باشد (۱۵). در گروه های بیمار دریافت کننده عصاره تا حدودی افزایش وزن نسبت به شاهد بیمار دیده می شود که معنی دار نیز بوده است اما مانع کاملی جهت جلوگیری از کاهش وزن و حفظ آن تا حد گروه های سالم نبوده است. که احتمالاً فیبر موجود در شقایق کوهی عامل این افزایش بوده است. مطالعات نشان داده است فیبر موجود در مواد غذایی موجب کاهش یا به تاخیر انداختن خروج مواد از معده به روده می گردد. بنابراین فرایند هضم و جذب مواد غذایی در روده کوچک به آهستگی رخ می دهد که

این امر موجب احساس سیری شده و در نهایت به کنترل وزن کمک می کند. مطالعات نیز افزایش وزن به دنبال مصرف فیبر در رژیم غذایی را ثابت می کند (۱۶). اما نکته قابل تامل در این آزمایش مشاهده تأثیر معنی دار عصاره هیدروالکلی شقایق کوهی در پیشگیری از افزایش وزن گروه های سالم تیمار با عصاره در مقایسه با شاهد سالم بوده است که حاکی از تأثیرات احتمالی چربی سوزی گیاه شقایق کوهی می باشد.

بررسی تأثیر عصاره آبی-الکلی شقایق کوهی بر

میزان قند خون: با توجه به جدول ۱ می توان چنین برداشت کرد که آلوکسان عامل تخریب سلول های بتای لوزالمعده و در نتیجه کاهش تولید انسولین و ایجاد دیابت در حیوانات مورد مطالعه است (۱۷).

گروه دیابتی تیمار با عصاره در مقایسه با گروه شاهد دیابتی غلظت گلوکز کاهش معنی داری را نشان داده است که این امر بیانگر آن است که گیاه شقایق کوهی دارای خاصیت هیپوگلیسمی است. مطالعات دیگر بیان داشته اند که ترکیباتی مانند فیبر، ویتامین E و استرول های گیاهی نقش مهمی در تنظیم قند خون ایفا می کنند که حضور این مواد در گیاه مورد مطالعه دور از انتظار نمی باشد (۱۸ و ۱۹). اما شاید مهمترین ریز فاکتور موجود در این گیاه که پررنگ ترین و قابل توجه ترین تأثیر را در کاهش قند خون دارد، آلکالوئید های متعدد و متنوع موجود در آن باشد (۲۰). مطالعات نشان داده است مصرف فیبر غلظت گلوکز پلاسما و مقدار گلوکز موجود در ادرار را کاهش می دهد. همچنین جذب در روده کوچک را کند کرده که احتمالاً این رویداد سبب تاخیر در بازجذب کربوهیدرات ها شده و در نتیجه میزان قند خون کنترل می شود (۲۱). مطالعات نشان داده که کربوهیدرات های رژیم غذایی نقش مهمی در هموستاز گلوکز بازی می کنند بنابراین کربوهیدرات های موجود در شقایق کوهی با کاهش سرعت عبور مواد از لوله گوارش و جذب مواد تأثیر گذاشته و کاهش غلظت گلوکز خون موجب کاهش نیاز به انسولین می گردد (۲۲). از طرفی

دیگر، خاصیت ضد التهابی آلکالوئیدها می تواند یک دلیل مهم در کاهش شدت علائم ناشی از غلظت بالای گلوکز خون باشد و البته این عمل آنها به نحوی ثانویه محسوب می شود؛ از سویی آلکالوئید گلوکسین قادر است با اثرات التهابی و سمی آلوکسان به صورت اولیه مقابله کند و باعث کاهش تخریب ناشی از آن شود (۲۳ و ۲۴). به هر حال با وجود مکانیسم های متعدد ذکر شده، داروی گلین کلامید عملکرد بهتری نشان داده است. فرآیندی که این دارو از آن بهره می گیرد بستن کانال های K-ATP دپلاریزان غشا و تحریک ورود ناگهانی کلسیم به داخل سلول است (۲۵).

بررسی تاثیر عصاره آبی-الکی شقایق کوهی بر میزان چربی خون: آنگونه که انتظار می رفت در مطالعه حاضر مشاهده شد که در گروه های دیابتی نسبت به گروه شاهد میانگین مقادیر کلسترول، LDL-C و تری گلیسیرید به طور معنی داری افزایش و سطح HDL-C کاهش معنی داری نشان می داد. در واقع القای دیابت توسط آلوکسان با تغییر لیپوپروتئین های پلاسما و افزایش اکسیداسیون آنها و تغییر در ترکیب اسید های چرب و دانسیته لیپوپروتئین های پلاسما همراه است (۲۶).

از آنجا که در برخی گروه های دریافت کننده عصاره سطوح سرمی لیپید ها نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش یافته است بنابراین شقایق کوهی دارای خاصیت هیپولیپیدمی می باشد. مشاهده این نتایج در مقایسه میان دو گروه سالم تیمار با عصاره با گروه شاهد سالم نیز این مسئله را تایید می کند. علت کاهش مشاهده شده در غلظت های مربوط به لیپیدها و نیز لیپوپروتئین های مضر را می توان در حضور فیبر و آلکالوئیدهای گیاهی در عصاره مورد نظر جستجو کرد و از طرفی افزایش ترشح انسولین با مکانیسم های پیش بینی شده در بخش قبل می تواند از تحریک مصرف اسیدهای چرب به عنوان سوخت جایگزین سلول ها ممانعت به عمل بیاورد. در تحقیقاتی که بر روی موش های صحرایی و پرمیات ها انجام شده مشاهده شد که فیبر ها بر متابولیسم اسیدهای صفراوی تاثیر می گذارند. همچنین فیبرها توانایی

اتصال به کلسترول و فسفولیپید را داشته و از جذب آنها جلوگیری می کنند (۲۷). کاندالیا و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مطالعات خود روی افراد دیابتی به این نتیجه رسیدند که مصرف فیبر مقدار کلسترول تان، تری گلیسیرید و LDL-C را کاهش می دهد. Kong و همکارانش در مطالعه ای که با مصرف بربرین در بیماران دیابتی همراه بود کاهش قابل توجهی را در غلظت گونه های مختلف چربی و لیپو پروتئین های خون مشاهده کردند (۲۸). این پژوهشگران ادعا می کنند که بربرین بیان گیرنده های LDL را مستقل از دیگر شاخص های پروتئینی استرول ها و با مکانیسم فعال سازی ERK در سلول های هیپاتومای انجام می دهد. این توضیح می تواند کاهش قابل توجه چربی های مضر خون را در گروه های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه دریافت کننده دارو را در آزمایش حاضر تایید کند. Zhang و همکاران، تاثیر کاهنده این آلکالوئید را بر روی تری گلیسیرید خون بیشتر از انواع کلسترول ها می دانند (۲۹). گلوکسین آلکالوئیدی است که خاصیت آنتی اکسیدانی آن به اثبات رسیده است و می تواند اسیدهای چرب باند مضاعف را در برابر پراکسیداسیون با واسطه رادیکال آزاد محافظت کند (۳۰). تجویز این آنتی اکسیدان از پراکسیداسیون لیپیدها و لیپوپروتئین ها جلوگیری نموده و در نتیجه منجر به کاهش غلظت سرمی آنها می گردد.

نتیجه گیری

جمع بندی نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می دهد که در میان تمام فاکتورها، قند خون تنها موردی بود که نتایجش حاکی از برتری داروی گلین کلامید نسبت به عصاره خوراکی گیاه شقایق کوهی در دوز مورد مطالعه بوده است. اختلاف معنی دار گروه تیمار با عصاره با دیگر گروه های دیابتی اعم از شاهد و تیمار با دارو در مورد فاکتورهای TG، کلسترول، HDL و LDL نشان دهنده برتری مطلق عصاره مورد مطالعه در مقایسه با داروی گلین کلامید در غلظت مورد مطالعه بوده است. از

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مدیریت و پرسنل مرکز نگهداری و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

دیگرنیایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان به کاهش معنی‌دار انواع لیپید های محلول و متصل به پروتین ها در گروه سالم تیمار با عصاره نسبت به گروه شاهد سالم نام برد که گیاه مورد نظر را دارای تاثیرات چربی سوزی قابل بررسی معرفی می‌کند.

References:

1. BeladiMousavi SS, Layegh P, Zeraati P, Tamadon MR. Treatment of hyperglycemia in patients with diabetes. MUMS 2014; 57: 866-73. [In Persian]
2. Franz M. Medical nutrition therapy for diabetes mellitus and hypoglycemia of nondiabetic origin. Philadelphia: WB Saunders 2008; 12: 764-8.
3. Andrade-Cetto A, Becerra J. Alfa glucosidase – inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type2 diabetes. Diabetes J Ethopharmaco 2008;116:27-32.
4. Bercu R, Dana Jianu L. Anatomy of the Endangered Plant *Glaucium Flavum* Cr., Occurring on the Romanian Black Sea Littoral. Nature Conservation 2006: 273-80.
5. Majd A, Mehrabian S, Khanafari A. Evaluating antimicrobial effect of *Glaucium* on Oral microflora. JDM 1996;9:57-66. [In persian]
6. Bogdanov MG, Svinyarov I, Keremedchieva R, Sidjimov A. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. I. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). Separ Purif Tech 2012;97:221-7.
7. García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. Inflamm Res 2009; 58:537-52.
8. Spasova M, Philipov S, Nikolaeva-Glomb L, Galabov A, Milkova T. Cinnamoyl-and hydroxycinnamoyl amides of glaucine and their antioxidative and antiviral activities. Bioorg Med Chem 2008;16:7457-61.
9. Bournine L, Bensalem S, Peixoto P, Gonzalez A, Maiza-Benabdesselam F, Bedjou F, et al. Revealing the anti-tumoral effect of Algerian *Glaucium flavum* roots against human cancer cells. Phytomed 2013;20:1211-18.
10. Cabo J, Cabo P, Jimenez J, Zarzuelo A. *Glaucium flavum* Crantz. Part v: Hypoglycemic activity of the aqueous extract. Phyto Res 1988;2:198-200.
11. Germano M, D'Angelo V, Sanogo R, Morabito A, Pergolizzi S, De Pasquale R. Hepatorotective activity of *Trichilia roka* on carbon tetrachloride- induced liver damage in rats. J Pharm Pharmacol 2001;53:1561-74.
12. Kusunoki J, Aragane K, Kitamine T, Kozono H, Kano K, Fujinami K, et al. Ostparandial hyperlipidemia in streptozotocin induced diabetic rats is due to abnormal increase in intestinal acyl coenzyme a: cholesterol acyltransferase activity. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20:171-8.
13. Friedewald WT, levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:499-502.
14. Azizi A, Hatami H, Janghorbani M. Epidemiology of common diseases in Iran. Endocr Res Cen 2001;1379:32-55.

15. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cel Mol Bio* 2003;49:635-39.
16. Bar-on H, Roheim PS, Eder HA. Hyperlipoproteinemia in streptozotocin-treated rats. *Am Diabetes Assoc* 1976;25:500-15.
17. Trombo P, Yates A, Schlicker-Renfo S, Sutor C. Dietary reference intakes: revised nutritional equivalents for folate, vitamin E and provitamin A carotenoids. *J Food Compos Analy* 2003;16:379-82.
18. Sabin S, Cavanagh-Kyros J, Barrett T, Jung DY, Ko HJ, Ong H, et al. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice. *Life Sci* 2001;71:1981-94.
19. Schweingruber F, Börner A, Schulze DE. Atlas of stem anatomy in herbs, shrubs and trees. 2nd ed. Jena: Springer, 2011:365.
20. Kiger A, Robert W. *Glaucium* In *Flora of North America*. 3rd ed. Oxford; Oxford Uni Press, 1997:283.
21. Bogdanov M, Svinyarov I, Keremedchieva R, Sidjimov A. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. I. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). *Separ Puri Tech* 2012;97:221-7.
22. William DR, James P, Evans IE. Dietary fiber supplementation of a normal breakfast administered to diabetics. *Diabeto* 1980;18:379-83.
23. Tsai AC, Peng B. Effects of locust bean gum on glucose tolerance, sugar digestion, and gastric motility in rats. *J Nutr* 1981;111:2152-6.
24. Cortijo J, Villagrasa V, Pons R, Berto L, Martí-Cabrera M, Martinez-Losa, M, et al. Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine: In vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. *Br J of Pharmacol* 1999;127:1641-51.
25. Lapa G, Sheichenko OP, Serezhechkin AG, Tolkachev ON. HPLC Determination of Glaucine in Yellow Horn Poppy Grass (*Glaucium flavum* Crantz). *Pharmaceut Chem J* 2004; 38:441-2.
26. Mowla A, Alauddin M, Rahman MA, Ahmed K. Antihyperglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) seed extract in Alloxan-induced diabetic rats and its use in diabetes mellitus: a brief qualitative phytochemical and acute toxicity test on the extract. *Afr J Trad Cam* 2009; 6:225-61.
27. Mattson FH, Grundy SM. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J lipid Res* 1985; 26: 194-202.
28. Kritchevsky D. Dietary fiber and disease. *Bull N Y Acad Med* 1982;58:230-41.
29. Kong W, Wei J, Abidi P, Lin M, Inaba S, Wang Y, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med* 2004;10: 1344-51.
30. Zhang Y, Li X, Zou D. Treatment of Type 2 Diabetes and Dyslipidemia with the Natural Plant Alkaloid Berberine. *J of Clin Endocrin Metab* 2008;93:2556-65.