

اثر عصاره هیدروالکلی گل گاوزبان ایرانی در کنترل قند خون و وزن موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

نویسندگان:

مینو محمودی^۱، هادی کلمحمدی^{۱*}، سیامک شهیدی^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No. 1, Spring 2015

چکیده:

مقدمه: دیابت شیرین یکی از مهم‌ترین ناهنجاری‌های متابولیکی در سراسر دنیا است. امروزه گیاهان دارویی متعددی به‌منظور مدیریت بیماری دیابت شیرین استفاده می‌شوند. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گل گاوزبان ایرانی بر کنترل قند خون و وزن در موش‌های صحرایی نر دیابتی بود.

روش کار: در این مطالعه ۳۰ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی در پنج گروه شش‌تایی شامل گروه‌های کنترل، دیابتی و دیابتی تیمار با عصاره هیدروالکلی گل گاوزبان ایرانی (دوزهای ۱۰۰ mg/kg، ۴۰۰ و ۶۰۰) تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک‌دوز (۶۰ mg/kg) انجام شد. میانگین قند خون و وزن حیوانات در شروع مطالعه و روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ بعد از شروع مطالعه اندازه‌گیری و در پایان میزان انسولین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم تعیین شد.

یافته‌ها: در تمامی گروه‌های تحت درمان با عصاره، میانگین وزن در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معناداری افزایش ($P < 0.05$) و میانگین قند خون نسبت به گروه دیابتی کاهش معناداری نشان داد ($P < 0.05$). میزان انسولین در حیوانات تحت تیمار با دوز ۶۰۰ mg/kg عصاره نسبت به گروه دیابتی افزایش معناداری داشت. همچنین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg نسبت به گروه دیابتی افزایش نشان داد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره گل گاوزبان ایرانی اثر کاهندگی روی قند خون دارد و می‌تواند از کاهش وزن دیابتی جلوگیری کند. این اثرات احتمالاً به دلیل وجود ترکیباتی چون فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره است.

واژگان کلیدی: دیابت قندی، گل گاوزبان ایرانی، قند خون، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی

Par J Med Sci 2015;13(1):37-44

مقدمه:

سال ۲۰۱۴ فراوانی بیماری دیابتی در افراد بالای ۱۸ سال حدود ۹ درصد برآورد شده و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۵ تعداد افراد دیابتی در جهان به حدود ۶۰۰ میلیون نفر برسد. [۳]. بر اساس آمار فدراسیون جهانی دیابت شیوع دیابت در ایران صرف‌نظر از نوع آن، حدود ۶ درصد است و در سال ۲۰۱۰ تعداد افراد مبتلا به دیابت آشکار حدود ۳ میلیون نفر گزارش شده است. [۴].

دیابت قندی از جمله بیماری‌های متابولیک است که با افزایش مزمن قند خون مشخص می‌شود و ناشی از اختلال در ترشح انسولین، عمل انسولین و یا هر دوی آن‌ها است [۱]. این بیماری که با هایپرگلیسمی متوسط تا شدید و بروز اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها همراه است، در دراز مدت سبب بروز رتینوپاتی، نوروپاتی، نوروپاتی و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود [۲]. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی در

* نویسنده مسئول، نشانی: همدان، بلوار پرفسور موسیوند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تلفن تماس: ۰۹۳۸۹۹۰۲۹۹۴ - ۰۸۱۳۴۴۲۴۰۰۱ پست الکترونیک: hadigolmohammadi2011@gmail.com

پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۸

اصلاح: ۱۳۹۴/۴/۱۲

دریافت: ۱۳۹۳/۱/۳

وزن و همچنین میزان انسولین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در دیابت تجربی ناشی از استرپتوزوتوسین انجام شد تا علاوه بر تعیین بهترین دوز این عصاره، بتوان از نتایج آن در کنترل میزان قند خون و کاهش وزن افراد دیابتی بهره جست.

روش کار:

در این مطالعه تجربی از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم که در حیوان‌خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان تکثیر شده بودند استفاده شد. حیوانات در دمای بین ۲۰-۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی کامل و بدون محدودیت به آب (لوله‌کشی) و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام-پارس) داشتند. در تمامی مراحل آزمایش، رفتار با حیوانات بر اساس قوانین بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود [۱۴].

گل‌های گیاه گل‌گاوزبان ایرانی از مرکز گیاهان دارویی ابن‌سینا (پس از تأیید توسط کارشناس همان مرکز، به شماره هرباریوم ۹۳۳۲) خریداری شد. گل‌های تهیه‌شده چند روز در سایه و هوای معمولی کاملاً خشک شدند. سپس برگ‌های خشک‌شده با آسیاب برقی (Kenwood BL-335) پودر شدند. به ۱۰۰ گرم از پودر تهیه‌شده درون یک ارلن یک لیتری آن‌قدر الکل ۸۰ درصد اضافه شد تا سطح پودر پوشانیده شود. پس از چند هفته محلول موردنظر صاف و عصاره خالص گیاه توسط دستگاه روتاری جداسازی و در هوای آزمایشگاه کاملاً خشک شد. این عصاره تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. با این روش از هر ۱۰۰ گرم پودر گل‌گاوزبان ۵/۹۳ گرم پودر خالص عصاره به دست می‌آید. دوزهای استفاده‌شده در پژوهش بر اساس مطالعات قبلی تعیین شدند. با توجه به این که بررسی‌های انجام‌گرفته بیانگر نداشتن هیچ‌گونه اثر سمی دوزهای معمول (۴۰-۸۰۰ mg/kg) عصاره گل‌گاوزبان ایرانی در موش‌ها بوده [۱۵]، دوزهای ۱۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg با حل نمودن عصاره خالص خشک‌شده در نرمال سالین (کلرور سدیم ۰/۹ درصد) در این تحقیق استفاده شدند. پس از سازگاری با محیط، موش‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه شش‌تایی شامل گروه‌های کنترل سالم (حیوانات سالم دریافت‌کننده نرمال سالین)، گروه کنترل دیابتی (حیوانات دیابتی دریافت‌کننده نرمال سالین) و سه گروه دیابتی تیمار با دوزهای ۱۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg تقسیم شدند. مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ در چهار گروه از موش‌ها با یک‌بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (Sigma-Aldrich, USA) به میزان ۶۰ mg/kg ایجاد شد که پس از یک

کاهش هایپرگلیسمی مزمن در دیابت سبب جلوگیری یا تأخیر در بروز عوارض ناشی از آن از جمله کاهش وزن، بیماری‌های قلبی-عروقی، آسیب‌های چشمی و ... خواهد شد [۵]. بالا بودن میزان استرس اکسیداتیو که نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است به‌شدت با دیابت و عوارض آن مرتبط است. استرس اکسیداتیو ایجادشده در دیابت در پیشرفت اختلال عملکرد سلول‌های بتای پانکراس مؤثر است و موجب تشدید عوارض دیابت می‌شود [۶]. با توجه به این‌که امروزه درمان اصلی و مؤثر برای دیابت قندی نوع ۱ تزریق انسولین و مصرف داروهای هیپوگلیسمیک است [۷] و از آنجاکه استفاده از انسولین و بیش‌تر داروهای پایین‌آورنده قند خون در دراز مدت دارای عوارض جانبی متعدد می‌باشند، نیاز به درمانی نوین و تحقیق جهت دستیابی به داروهای بی‌خطر و مؤثر برای درمان آن ضروری به نظر می‌رسد [۸]. در این رابطه یکی از راه‌های مؤثر می‌تواند استفاده از گیاهان دارویی باشد. مشخص‌شده است که مصرف آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی یک شیوه ضروری برای تحریک پاسخ و مقابله با آثار ناشی از استرس اکسیداتیو در بافت‌های بدن از جمله پانکراس است [۹]. برآورد شده است بیش از ۸۰۰ نوع از گیاهان به‌عنوان داروی سنتی برای درمان دیابت استفاده می‌شوند که اثر هیپوگلیسمی تعداد زیادی از این گیاهان در نمونه‌های حیوانی و مطالعات بالینی بررسی و تأییدشده است [۱۰].

گل‌گاوزبان ایرانی با نام علمی *Echium amoenum L.* گیاهی از خانواده بوراژیناسه و بومی ایران است که به‌صورت خودرو در استان‌های شمالی ایران از جمله گیلان و مازندران و ارتفاعات چالوس، کلاردشت و کندوان یافت می‌شود [۱۱]. بررسی‌های فتوشیمیایی برگ‌های این گیاه نشان می‌دهد که مقادیر مختلفی از فلاونوئیدها، ساپونین، ترکیبات پلی‌فنلی، کیتون‌ها و کینوفوران‌ها، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و به میزان کم موسیلاژ در آن وجود دارد. وجود مقادیر زیادی اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ (لینولئیک اسید) و همچنین ترکیباتی از قبیل نیترات پتاسیم و نمک‌های کلسیمی نیز در این گیاه به اثبات رسیده است. گل‌گاوزبان از مهم‌ترین گیاهان دارویی در طب سنتی ایران به شمار می‌آید و گل‌های آن دارای اثرات ضدالتهاب، ضد درد، ضد اضطراب، ضدافسردگی و برطرف‌کننده تپش قلب است که در درمان بیماری کلیوی نیز مؤثر است. به‌تازگی اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی این گیاه نیز به اثبات رسیده است [۱۲] و [۱۳]. با توجه به این‌که در مورد اثرات گل‌گاوزبان ایرانی بر دیابت و عوارض ناشی از آن از جمله کاهش وزن در داخل و خارج کشور گزارشی یافت نشده، این مطالعه باهدف بررسی اثر سه دوز متفاوت عصاره هیدروالکلی این گیاه روی کنترل قند،

میانگین قند خون گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ mg/kg، ۴۰۰ و ۶۰۰ نسبت به گروه کنترل دیابتی به‌طور معناداری ($P < 0.05$) کاهش یافت.

یافته‌های حاصل از آزمونی زوجی نشان داد که میانگین قند خون در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ mg/kg، ۴۰۰ و ۶۰۰ عصاره به ترتیب از $13/0.3$ ، $515/8 \pm 10/4$ mg/dl و $518/6 \pm 9/6$ و $513/4 \pm 9/6$ در شروع مطالعه (قبل از تزریق عصاره) به $6/0.5$ mg/dl $\pm 495/2$ ، $5/9$ $\pm 410/6$ و $4/3$ $\pm 389/8$ در پایان آزمایش (روز ۳۰) کاهش یافته است که این کاهش در گروه‌های تیمار با دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg معنادار ($P < 0.05$) بود.

در ابتدا و قبل از دیابتی کردن حیوانات تفاوت معناداری بین میانگین وزن گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد (جدول شماره ۲). با توجه به یافته‌های حاصل از آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی توکی، پس از القاء دیابت میانگین وزن حیوانات در تمام گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری ($P < 0.05$) داشت که این کاهش وزن در گروه کنترل دیابتی تا پایان دوره تحقیق به‌طور پیش‌رونده‌ای ادامه یافت. در روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پس از شروع تزریق عصاره کاهش وزن ناشی از دیابت متوقف شد و یک افزایش وزن نسبی در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره مشاهده شد که در روز ۱۰ این افزایش وزن نسبت به گروه کنترل دیابتی معنادار نبود. در روز ۲۰ و ۳۰ میانگین وزن حیوانات در تمامی گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0.05$). همچنین تفاوت معناداری بین میانگین وزن نهایی موش‌ها در گروه دریافت‌کننده دوز ۶۰۰ نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. بر اساس یافته‌های آزمونی زوجی میانگین وزن حیوانات در سه گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره به ترتیب از $238/2 \pm 5/0.1$ ، $236/5 \pm 6/7$ و $232/2 \pm 3/14$ (قبل از تزریق عصاره) به $240/2 \pm 6/5$ ، $248/6 \pm 4/7$ و $248/6 \pm 2/3$ (روز ۳۰) افزایش یافت که این افزایش در گروه‌های تیمار با دوزهای ۶۰۰ mg/kg معنادار ($P < 0.05$) بود. همچنین نتایج نشان داد که از بین دوزهای مصرفی دوز ۶۰۰ mg/kg مؤثرترین و کارآمدترین دوز در کاهش قند خون و کنترل وزن در گروه‌های مختلف بود.

هفته با مشاهده علائم دیابت از جمله پرنوشی، پرخوری، پر ادراری و میزان قند خون ناشتا (به مدت ۱۰ ساعت) به میزان بیش‌تر از ۲۰۰ mg/dl [۱۶] تأیید شد. روش تزریق عصاره در تمامی گروه‌ها به‌صورت داخل صفاقی بود.

وزن و قند خون تمام حیوانات قبل از القاء دیابت، یک هفته بعد از القاء دیابت (قبل از تزریق عصاره) و در روزهای ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ پس از تزریق عصاره اندازه گرفته شد. اندازه‌گیری وزن با ترازوی دیجیتال (Sartorius) و سنجش قند خون با دستگاه گلوکومتر (Accu Chek) انجام شد. بر اساس تحقیقات قبلی قند خون اندازه‌گیری شده با دستگاه گلوکومتر کم‌ترین میزان اختلاف میانگین را نسبت به روش استاندارد (روش آنزیمی) دارد [۱۷]. در پایان روز سی‌ام، از قلب موش‌ها خون گرفته شد و میزان انسولین به روش آلیزا (با کیت Monobind) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (با کیت Ransod- Randox Co) با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

به‌منظور تحلیل‌های آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS19 استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها به کمک آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی و تأیید شد. اختلاف آماری بین گروه‌های مختلف با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی و اختلاف گروه‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش با آزمون تی زوجی بررسی شدند. در بررسی‌های آماری، سطح معنادار $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

بر اساس یافته‌های آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی توکی، پس از القاء دیابت توسط استرپتوزوتوسین، میانگین قند خون ناشتا در تمام گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری ($P < 0.01$) افزایش یافت که این افزایش میانگین قند در گروه کنترل دیابتی تا پایان دوره مطالعه به‌طور پیش‌رونده‌ای ادامه داشت (جدول ۱).

افزایش قند خون در روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده عصاره متوقف و یک‌روند کاهشی داشت. در ۱۰ روز پس از تزریق عصاره کاهش میانگین قند خون در سه گروه دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه کنترل دیابتی معنادار نبود، اما در روز ۲۰، میانگین قند خون در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg عصاره نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معناداری ($P < 0.05$) را نشان داد. در پایان دوره تحقیق (روز ۳۰)

جدول ۱: اثر عصاره گل گاوزبان ایرانی بر میانگین قند خون موش‌های صحرایی (mg/dl) در گروه‌های مورد مطالعه

| گروه | کنترل | کنترل دیابتی | عصاره (۱۰۰ mg/kg) | عصاره (۴۰۰ mg/kg) | عصاره (۶۰۰ mg/kg) |
|--------------|--------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| قبل از دیابت | ۱۲۴٫۵ ± ۸٫۱ | ۱۲۱٫۳ ± ۱۱٫۷ | ۱۱۸ ± ۸٫۳ | ۱۲۰٫۱ ± ۵٫۳ | ۱۲۲٫۷ ± ۱۰٫۹ |
| قبل از عصاره | ۱۲۶٫۴ ± ۷٫۴ | ۵۰۴٫۸ ± ۱۴٫۱** | ۵۱۵٫۸ ± ۱۰٫۴** | ۵۱۸٫۶ ± ۱۳٫۰۲** | ۵۱۳٫۴ ± ۹٫۶** |
| روز ۱۰ | ۱۱۷٫۳ ± ۱۰٫۷ | ۵۱۵٫۶ ± ۱۱٫۳** | ۵۲۵٫۲ ± ۴٫۳** | ۵۱۰٫۳ ± ۳٫۶** | ۵۰۲٫۸ ± ۴٫۰۸** |
| روز ۲۰ | ۱۲۱٫۶ ± ۹ | ۵۴۲٫۲ ± ۸٫۱** | ۵۲۱٫۱ ± ۵٫۴** | ۴۹۵٫۷ ± ۷٫۵**# | ۴۷۰٫۲ ± ۶٫۹**# a |
| روز ۳۰ | ۱۲۵٫۲ ± ۶٫۳ | ۵۵۰٫۸ ± ۷٫۷** | ۴۹۵٫۲ ± ۶٫۰۵**# | ۴۱۰٫۶ ± ۵٫۹**# a | ۳۸۹٫۸ ± ۴٫۳**# a |

** اختلاف معنادار با گروه کنترل ($P < 0.01$) # اختلاف معنادار با گروه کنترل دیابتی ($P < 0.05$)
a: اختلاف با قبل از عصاره ($P < 0.05$)

جدول ۲: اثر عصاره گل گاوزبان ایرانی بر میانگین وزن موش‌های صحرایی (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه

| گروه | کنترل | کنترل دیابتی | عصاره (۱۰۰ mg/kg) | عصاره (۴۰۰ mg/kg) | عصاره (۶۰۰ mg/kg) |
|--------------|-------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| قبل از دیابت | ۲۶۳٫۳ ± ۱٫۲ | ۲۵۸٫۷ ± ۶٫۰۳ | ۲۶۰٫۴ ± ۴٫۶ | ۲۶۲٫۶ ± ۲٫۳ | ۲۵۵٫۲ ± ۳٫۷ |
| قبل از عصاره | ۲۷۰٫۲ ± ۹٫۶ | ۲۴۷٫۳ ± ۲٫۳* | ۲۳۸٫۲ ± ۵٫۰۱* | ۲۳۲٫۲ ± ۳٫۱۴* | ۲۳۶٫۵ ± ۶٫۷* |
| روز ۱۰ | ۲۷۵٫۳ ± ۳٫۳ | ۲۱۵٫۶ ± ۸٫۸* | ۲۳۲٫۲ ± ۱۰٫۱* | ۲۲۵٫۳ ± ۷٫۲* | ۲۳۹٫۸ ± ۱۸٫۴* |
| روز ۲۰ | ۲۸۱٫۶ ± ۵٫۶ | ۱۹۵٫۲ ± ۱۲* | ۲۳۵٫۱ ± ۵٫۰۳**# | ۲۳۸٫۷ ± ۲٫۱**# | ۲۴۳٫۲ ± ۴٫۰۱**# |
| روز ۳۰ | ۲۸۹٫۲ ± ۷٫۵ | ۱۷۶٫۸ ± ۳٫۶* | ۲۴۰٫۲ ± ۶٫۵**# | ۲۴۸٫۶ ± ۴٫۷**# | ۲۶۰٫۸ ± ۲٫۳**# a |

** اختلاف معنادار با گروه کنترل ($P < 0.05$) # اختلاف معنادار با گروه کنترل دیابتی ($P < 0.05$)
a: اختلاف با قبل از عصاره ($P < 0.05$)

کنترل افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0.05$). از سوی دیگر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در کلیه گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($P < 0.05$)، اما تیمار با دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg عصاره موجب افزایش معنادار ($P < 0.05$) فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به گروه کنترل دیابتی شد.

جدول ۳ اثر عصاره گل گاوزبان ایرانی بر میزان انسولین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم را نشان می‌دهد. بر اساس یافته‌های حاصل از آزمون تحلیل واریانس و آزمون توکی، القای دیابت سبب کاهش شدید و معنادار میزان انسولین گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل شده است. میانگین میزان انسولین در گروه دریافت‌کننده دوز ۶۰۰ mg/kg عصاره نسبت به گروه

جدول ۳: اثر عصاره گل گاوزبان بر میزان انسولین ($\mu\text{u/ml}$) و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (u/ml) سرم در گروه‌های مختلف در پایان مطالعه

| گروه | کنترل | کنترل دیابتی | عصاره (۱۰۰ mg/kg) | عصاره (۴۰۰ mg/kg) | عصاره (۶۰۰ mg/kg) |
|---------------------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| انسولین | ۱۲٫۳۳ ± ۱٫۲۳ | ۵٫۷ ± ۰٫۷۱* | ۶٫۴ ± ۱٫۰۱* | ۵٫۹ ± ۰٫۹۲* | ۸٫۱ ± ۰٫۶۶**# |
| آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز | ۱۳۵٫۲ ± ۸٫۶ | ۷۲٫۳ ± ۷٫۰۳* | ۸۱٫۲ ± ۳٫۷* | ۹۶٫۵ ± ۹٫۱۴**# | ۱۰۱٫۶ ± ۵٫۷**# |

** اختلاف معنادار با گروه کنترل ($P < 0.05$) # اختلاف معنادار با گروه کنترل دیابتی ($P < 0.05$)

سطح انسولین و به طبع آن افزایش میزان گلوکز خون در حیوانات می‌شود [۱۸]. از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که القای دیابت تجربی در موش‌های صحرایی به‌طور معناداری سبب کاهش وزن این حیوانات نسبت به گروه کنترل می‌شود. در جریان دیابت نوع ۱، به دلیل این که بدن نمی‌تواند قند موجود در خون را به علت نقص تولید انسولین مورد استفاده قرار دهد، از سایر منابع خود مانند چربی‌ها و گاهی پروتئین‌ها استفاده می‌کند، از این‌رو بیمار دیابتی بسیار لاغر و فرتوت می‌شود [۱۹]. همچنین پس از دیابتی شدن حیوانات، مقدار آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به گروه کنترل

بحث:

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن با القای دیابت در موش‌های صحرایی همراه است، به طوری که سبب کاهش معنادار میزان انسولین خون و افزایش معنادار گلوکز خون نسبت به گروه کنترل شد. استرپتوزوتوسین با آسیب رساندن به غشاء سلول‌های بتا پانکراس، قطعه‌قطعه کردن DNA، افزایش بیان mRNA مربوط به آنزیم گلوکز ۶- فسفاتاز کبدی و واکنش با آنزیم‌هایی مانند گلوکوکیناز موجب کاهش

همچنین آشوبنی و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات ضد دیابتی عصاره گونه دیگری از این خانواده با نام علمی *Rotula aquatica* را در مطالعات خود بررسی کردند و اعلام کردند عصاره این گیاه به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی از قبیل کوئرستین، قند خون حیوانات دیابتی را حدود ۵۰ درصد کاهش می‌دهد و ساپونین‌های موجود در این گیاه به‌طور مؤثری از کاهش وزن ناشی از دیابت جلوگیری می‌کند [۲۴]. یافته‌های مطالعات قبلی نشان می‌دهد که ترکیباتی از قبیل ساپونین‌ها سبب افزایش وزن در موش‌های صحرایی بالغ می‌شود. مشخص شده است ساپونین‌ها از طریق تأثیر بر ریتم شبانه‌روزی رفتارهای مربوط به غذا خوردن و افزایش اشتها سبب افزایش وزن در موش‌های بالغ می‌شود [۲۵]. مطالعات نشان می‌دهد که گل‌گاوزبان ایرانی حاوی مقادیری از اسیدهای چرب گیاهی همچون لینولئیک اسید [۲۶] و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله رزمارینیک اسید [۲۷] است. مشخص شده است که لینولئیک اسید سبب افزایش وزن [۲۵] و رزمارینیک اسید سبب اثرات ضد دیابتی در موش‌های صحرایی بالغ شده و قادر است قند خون موش‌های دیابتی را کاهش دهد [۲۸]. از این رو، می‌توان گفت که عصاره گل گاوزبان ایرانی احتمالاً به دلیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از طریق مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از هیپرگلیسمی دیابتی، در بهبود این بیماری مؤثر است.

برخی از عصاره‌های گیاهی می‌توانند از طریق افزایش آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراس که در اثر عمل استرپتوزوتوسین آسیب‌نندیده‌اند، عمل کنند و با افزایش مقدار انسولین سبب کاهش قند خون افراد دیابتی شوند [۲۹]. از طرف دیگر، برخی از گیاهان دارویی ضد دیابت با گیرنده انسولین واکنش متقابل نداشته و عمل انسولین را با واکنش متقابل با تیروزین کیناز گیرنده انسولین تحریک می‌کنند [۳۰]. بنابراین، می‌توان گفت که احتمالاً بخشی از اثرات عصاره گل‌گاوزبان در افزایش سطح انسولین و کاهش قند خون از طریق تحریک سنتز و آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس انجام می‌شود.

افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در نتیجه اکسیداسیون گلوکز و کاهش سازوکارهای دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی می‌شود که این موضوع سبب آسیب اکسیداتیو به بافت‌ها و سلول‌ها از جمله سلول‌های بتای پانکراس و کاهش بیش‌ازپیش تولید انسولین در این بیماران خواهد شد [۳۱].

مشخص شده است که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی یک شیوه مؤثر برای مقابله با استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف به‌خصوص سلول‌های پانکراس است [۳۲]. دلیل این امر این

کاهش یافت. مطالعات نشان می‌دهد که در دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین، مهار آنزیم‌های برطرف‌کننده رادیکال‌های آزاد را در پی خواهد داشت که این کاهش آنزیمی به همراه افزایش استرس اکسیداتیو موجب افزایش تخریب سلول‌های بتای پانکراس می‌شود [۲۰].

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، تیمار گروه‌های دیابتی با دوزهای ۴۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg عصاره، میانگین قند خون نهایی را در مقایسه با زمان شروع مطالعه و همچنین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش می‌دهد. در پایان دوره تحقیق، وزن تمامی گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش نشان داد و وزن گروه تیمار با دوز ۶۰۰ mg/kg در مقایسه با زمان شروع آزمایش افزایش داشت. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق عصاره به مدت یک ماه سبب افزایش مقدار انسولین و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز سرم نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌شود.

در مطالعات مختلف اثرات ضد دردی [۲۱]، ضدافسردگی، ضد میکروبی و ضد سرطانی [۱۲ و ۱۳] گل‌گاوزبان تأیید شده است، اما تا به امروز در مورد اثرات ضد دیابتی و هیپوگلیسمیک گیاه گل‌گاوزبان ایرانی مطالعه‌ای انجام نگرفته است. تحقیقات مختلف، اثرات ضد دیابتی سایر گونه‌های خانواده بوراژیناسه را تأیید می‌کنند. محمد و آری در سال ۲۰۱۲ اثرات ضد دیابتی و پایین آوردن قند خون گونه *Anchusa strigosa* را در موش‌های صحرایی دیابتی تأیید کرده‌اند. آن‌ها اثرات ضد دیابتی این گونه از خانواده بوراژیناسه را به وجود ترکیباتی چون فلاونوئیدها در این گیاه نسبت دادند و بیان کردند که فلاونوئیدهای گیاهی با سازوکارهای مختلفی از جمله (۱) افزایش دادن فعالیت هگزوکیناز و گلوکوکیناز کبدی (۲) داشتن خاصیت شبه انسولینی برخی از آن‌ها و (۳) افزایش جذب گلوکز توسط سلول‌های عضله، کبد و چربی-البته با سازوکار اثرگذاری متفاوت از انسولین- قادر به کاهش قند خون بیماران دیابتی می‌باشند [۲۲].

آندرد و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثرات هیپوگلیسمی عصاره یکی دیگر از گونه‌های خانواده بوراژیناسه با نام علمی *Tournefortia hirsutissima* را در موش‌های صحرایی دیابتی بررسی و مشاهده کردند که عصاره این گیاه سبب کاهش قند خون در حیوانات دیابتی می‌شود. آن‌ها این اثرات مثبت را به فلاونوئیدها و ترکیبات پلی فنلی موجود در این گیاه نسبت دادند و بیان کردند پلی فنل‌ها احتمالاً از طریق افزایش بیان ترانسپورترهای گلوکز (GLUT4) در سلول‌های عضلانی، موجب کاهش قند خون می‌شود [۲۳].

سلول‌های بتای پانکراس اعمال و از این طریق سبب بهبود عملکرد آن‌ها می‌شود.

با این حال، انجام تحقیقات بیش‌تر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد و پیشنهاد می‌شود برای یافتن سازوکار دقیق تأثیر عصاره گل‌گاوزبان ایرانی بر بهبود وضعیت دیابت، لازم است هر یک از اجزای موجود در عصاره به‌طور مجزا در مطالعات تجربی و بالینی ارزیابی شوند و تأثیر این گیاه روی بازسازی و ترمیم جزایر لانگرهانس نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری:

عصاره گل‌گاوزبان ایرانی قند خون را در موش‌های صحرایی دیابتی پایین آورده و از کاهش وزن دیابتی به‌عنوان یکی از عوارض شایع دیابت جلوگیری می‌کند. این اثرات سودمند را احتمالاً می‌توان به وجود ترکیباتی همچون فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاه نسبت داد. همچنین یافته‌ها حاکی از آن است که دوز 600 mg/kg عصاره مناسب‌ترین و اثر بخش‌ترین دوز در بین دوزهای مورد استفاده در این تحقیق بوده است.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان این مقاله از همکاری صمیمانه مسئول محترم آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع:

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

است که پانکراس اولین خط پس از جذب روده‌ای است و می‌تواند غلظت‌های بالای آن‌تری‌اکسیدانی را داشته باشد [۳۳]. مطالعات بیانگر آن است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی همچون ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها قادرند استرس اکسیداتیو ایجادشده در دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین را کاهش دهند و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دیسموتاز مانع از بین رفتن سلول‌های بتای پانکراس شوند. همچنین این ترکیبات با تنظیم مجدد سلول‌های بتای پانکراس موجب افزایش میزان انسولین و به طبع آن کاهش قند خون شوند [۳۴].

بر اساس تحقیقات انجام‌شده عمده تأثیر درمانی گل‌گاوزبان ایرانی را می‌توان به ترکیبات مؤثر موجود در آن از جمله فلاونوئیدها، ساپونین، ترکیبات پلی فنلی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از قبیل رزمارینیک اسید و اسیدهای چرب مرتبط دانست [۱۳، ۳۵]. اگرچه طراحی مطالعه حاضر به‌گونه‌ای نبوده است که بتوان با کمک آن به ماهیت دقیق ماده مؤثر و چگونگی اثر آن پی برد، ولی با توجه به نتایج حاصل احتمالاً می‌توان اثرات مثبت عصاره گل‌گاوزبان را به ترکیبات شیمیایی مؤثر این گیاه نسبت داد که توانسته‌اند با سازوکارهای مختلفی از جمله خواص شبه انسولینی، تأثیر بر آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم قندها، تحریک ترشح انسولین و افزایش جذب گلوکز توسط سلول‌ها اثرات هیپوگلیسمیک خود را ظاهر کنند. همچنین بخشی از تأثیر مثبت این عصاره در جلوگیری از کاهش وزن دیابتی را شاید بتوان به ساپونین‌ها و لینولئیک اسید موجود در عصاره و اثرات این گیاه در تنظیم سوخت ساز قندها و چربی‌ها نسبت داد. از سوی دیگر، عصاره گل‌گاوزبان به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همچون ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها احتمالاً از طریق افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش استرس اکسیداتیو اثرات حفاظتی خود را بر

References:

1. DeFronzo RA. Pathogenesis of diabetes. *Diabetes Rev* 1997; 5: 177.
2. Chait A, Bierman EL. Pathogenesis of macrovascular disease in diabetes. in: CR Kahn, GC Weir (eds). *Joslin's diabetes mellitus*. 13th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1994: 648-664.
3. David B. The Global Economic Burden of Noncommunicable Diseases. Geneva: World Econ Forum, 2014; 235-11.
4. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, et al. *IDF Diabetes Atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030*. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 94: 311-321.
5. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. New York: McGraw-hill companies; 2005: 2152 - 80.
6. Esteghamati A, Eskandari D, Mirmiranpour H, et al. Effects of metformin on markers of oxidative stress and antioxidant reserve in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Clin Nutr* 2013; 32(2): 179-185.
7. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49: 635-639.
8. Bahadoran Z, Mirmiran P, Hosseini F, et al. Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2

- diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65(8): 972-977.
9. Maurya AK, Tripathi S, Ahmad Z, et al. Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of *Euphorbia hirta* in Streptozotocin induced diabetic rats. *Scholars Res Libr* 2012; 4(2): 703-7.
 10. Ahmadi Mahmoudabadi N, Madani H, Mahzouni P. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of hydroalcoholic *Cynara scolymus* L. extract in Alloxan monohydrate-induced diabetic Rats to compare with Glibenclamide. *IJMAP* 2008; 24(2(40)): 148-161. [Persian]
 11. Saiah Bargard M, Asadi M, Amini h, et al. Efficacy of aqueous extract of *Echium amoenum* L. in the treatment of mild to moderate major depressive disorder: A randomized double blind clinical trial. *JMP* 2004; 10: 61-68. [Persian]
 12. Amirghofran Z, Azadbakht M, Keshavarzi F. *Echium amoenum* stimulate of lymphocyte proliferation and inhibit of humoral antibody synthesis. *Ir J Med Sci* 2000; 25: 119-124.
 13. Ranjbar A, Khorami S, Safarabadi M, et al. Antioxidant Activity of Iranian *Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey Flower Decoction in Humans: A cross-sectional Before/After Clinical Trial. *eCAM* 2006; 3(4): 469-473.
 14. NRC (National Research Council), Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NAP 1996; 9 – 11.
 15. Mehrabani M, Mehrabani M, Raftari Sh, et al. Evaluation of Hepatotoxicity of Common Doses of Extract of *Echium Amoenum* in Rats. *Kmusj* 2007; 14(1): 44-54. [Persian]
 16. Kamboj A, Kumar S, Kumar V. Evaluation of Antidiabetic Activity of Hydroalcoholic Extract of *Cestrum nocturnum* Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Adv Pharmacol Sci* 2013; 2013: 1-4.
 17. Bastanhagh MH, Larijani B, Khalili Fard AR, et al. The assessment of the difference of capillary blood glucose level and venous glucose level measured by glucometer devices. *ZJRMS* 2003; 5(2): 9-15. [Persian]
 18. Merzouk H, Madani S, Chabane Sari D, et al. Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 2000; 98(1):21-30.
 19. Haidari F, Shahi MM, Zarei M, et al. Effect of green tea extract on body weight, serum glucose and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. A dose response study. *Saudi Med J* 2012; 33(2):128-33.
 20. Adewole SO, Caxton-Martins EA, Ojewole JA. Protective effect of quercetin on the morphology of pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diabetic rat. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2006; 4(1): 64-74.
 21. Heidari MR, Azad EM, Mehrabani M. Evaluation of the analgesic effect of *Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey. extract in mice: possible mechanism involved. *J Ethnopharmacol* 2006; 103(3):345-9.
 22. Muhammed A , Ari N. Antidiabetic Activity of Aqueous Extract of *Anchusa strigosa* Lour. Roots in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Int J Pharm* 2012; 2(3): 445-449.
 23. Andrade-Cetto A, Revilla-Monsalve C, Wiedenfeld H. Hypoglycemic effect of *Tournefortia hirsutissima* L., on n-streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2007; 112(1):96-100.
 24. Ashwini CS, Pramod HJ, Abhishek KR, et al. Antidiabetic Activity of Aqueous Extract of *Rotula aquatic* Lour. Roots in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *JPSI* 2012; 1(3): 14.
 25. Coulson CB , Evanc RA. The effect of saponin, sterols and linoleic acid on the weight increase of growing rats. *BR J Nutr* 1960; 14: 121-34.
 26. Abolhassani M. Antiviral activity of borage (*Echium amoenum*). *Arch Med Sci* 2010; 6(3): 366-369.
 27. Mehrabani M, Ghannadi A, Sajjadi E, et al. Toxic Pyrrolizidine alkaloids of *Echium amoenum* Fisch. & Mey. *DARU* 2006; 14 (3): 122-7. [Persian]
 28. Sadeghzadeh F, Eidi A, Parivar K, et al. Hypoglycemic Effect of Alcoholic Extract of *Salvia nemorosa* in Normal and Diabetic Male Rats. *Pejoughesh* 2008; 32 (3): 233-238. Persian]
 29. Verspohl EJ. Recommended testing in diabetes research. *Planta Med* 2002; 68(7): 581-9.
 30. Howell SL, Young DA, Lacy PE. Isolation and properties of secretory granules from rat islets of langerhans. *J Cell Biol* 1969; 41(1):167-76.
 31. Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, et al. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and cell damage in rat pancreas. *Tohoku J Exp Med* 2004; 203: 145-154.
 32. Yazdanparast R, Ardestani A, Jamshidi S. Experimental diabetes treated with *Achillea santolina*: Effect on pancreatic oxidative parameters. *J Ethnopharmacol* 2007; 112: 13-18.
 33. Pinet M, Castell A, Baiges I, et al. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. *Compr Rev Food Sci F* 2008; 7: 299-308.
 34. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, et al. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 2005; 51(2): 117-123.
 35. Naderi HM, Rezaee MB. Primory Phytochemical investigation of *Echium amoenum*. *IJMAPR* 2004; 20 (3): 377-383. [Persian]

The effect of the hydroalcoholic extract of *Echium amoenum* on glycemic control and body weight in streptozotocin-induced diabetic male Rats

Mahmoudi Mino¹, Golmohammadi Hadi^{1*}, Shahidi Siamak²

Received: 3/23/2014

Revised: 7/3/2015

Accepted: 7/9/2015

1. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamadan Branch, Hamadan, Iran

2. Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No. 1, Spring 2015

Par J Med Sci 2015;13(1):37-44

Abstract

Introduction:

Diabetes mellitus is one of the main metabolic disorders across the world. Numerous medicinal herbs are currently used for the management of diabetes mellitus. The present study was conducted to assess the effect of the hydroalcoholic extract of *Echium amoenum* (EA) on glycemic control and weight in diabetic male rats.

Materials and Methods:

The study was conducted on 30 male Wistar rats randomly divided into five groups of six rats each, including a control group, a diabetic group receiving no treatments and three diabetic groups treated with 100, 400 or 600 mg/kg of the hydroalcoholic extract of Iranian EA. Diabetes was induced in the rats by the intraperitoneal administration of a single dose of Streptozotocin (60 mg/kg). The rats' blood glucose and weight were measured at baseline and then on days 10, 20 and 30 of the study. Their insulin and superoxide dismutase (SOD) activity levels were determined at the end of the study.

Results:

In all the groups treated with the extract, there was a significant increase in the mean weight and a significant decrease in the mean blood glucose levels compared to the diabetic group ($P < 0.05$). Insulin levels increased significantly in the rats treated with a 600 mg/kg dose of the extract compared to the diabetic group. SOD activity also increased significantly in the groups receiving 400 and 600 mg/kg doses of the extract compared to the diabetic group ($P < 0.05$).

Conclusion:

The study demonstrated that the hydroalcoholic extract of Iranian EA has hypoglycemic effects and can be used to prevent weight loss due to diabetes. These effects might be due to the presence of compounds such as flavonoids and saponins and some of the plant's antioxidant properties.

Keywords: Diabetes mellitus, *Echium amoenum*, blood glucose, Streptozotocin, rats

* Corresponding author, Email: hadigolmohammadi2011@gmail.com