

اثر هیپولیپیدمیک عصاره آبی برگ سنبليله در موش صحرایی دیابتی

دکتر مهرداد روغنی، دکتر توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد، دکتر فرشاد روغنی‌دهکردی

چکیده

مقدمه: با در نظر گرفتن اثرات هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک دانه سنبليله و وجود شواهد متعدد مبنی بر اثر هیپوگلیسمیک برگ سنبليله، در این مطالعه اثر هیپولیپیدمیک عصاره آبی سنبليله در مدل تجربی دیابت قندی مورد بررسی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** برای این منظور موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار به گروه‌های شاهد، شاهد تیمار شده با عصاره آبی برگ سنبليله، دیابتی، و دیابتی تحت درمان با عصاره تقسیم شدند. عصاره آبی سنبليله در دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ mg/Kg به روش درون صفاقی و یک روز در میان سه روز پس از شروع بررسی به مدت دو ماه تجویز شد. مقادیر تری‌گلیسرید، کلسترول تام، کلسترول HDL، و کلسترول LDL سرم در هفته قبل از بررسی و در هفته‌های چهارم و هشتم پس از آن تعیین شد. یافته‌ها: میزان کلسترول تام سرم در موش‌های دیابتی افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/05$) و تیمار با عصاره تغییر معنی‌داری در سطح کلسترول سرم ایجاد نکرد. افزایش غیر معنی‌دار مقدار تری‌گلیسرید در موش‌های دیابتی مشاهده شد و درمان موش‌های دیابتی با عصاره قادر به کاهش سطح تری‌گلیسرید در مقایسه با گروه دیابتی نبود. به علاوه کلسترول LDL و HDL در موش‌های دیابتی به ترتیب افزایش ($p < 0/01$) و کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) نشان داد و تیمار موش‌های دیابتی با عصاره به ترتیب موجب کاهش ($p < 0/05$) و افزایش معنی‌دار ($p < 0/01$) این پارامترها گردید. نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد که تیمار موش‌های دیابتی با عصاره آبی برگ سنبليله موجب بهبود تغییرات نامطلوب مقدار کلسترول LDL و HDL می‌گردد که این اثر می‌تواند برای کاستن عوارض قلبی - عروقی ناشی از دیابت قندی مورد توجه باشد.

واژگان کلیدی: سنبليله، دیابت قندی، تری‌گلیسرید، کلسترول تام، HDL، LDL، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۸۲/۱۰/۲۷ - دریافت اصلاحیه: ۸۴/۴/۱۸ - پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۱

مقدمه

این بیماری با افزایش خطر بیماری‌های قلبی - عروقی همراه است.^۱ هر چند که در حال حاضر استفاده از انسولین و عوامل هیپوگلیسمیک درمان اصلی و مؤثر دیابت به شمار می‌رود، این ترکیبات عوارض نامطلوب متعددی دارند و در درازمدت تأثیری بر روندهای ایجاد کننده عوارض ناتوان کننده دیابت تأثیر ندارند.^۲ با توجه به افزایش دانش بشری در زمینه هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر در درمان دیابت با عوارض جانبی کمتر، گام مؤثری

بیماری دیابت قندی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز بدن به شمار می‌رود که شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت.^۱ جنبه متابولیک دیابت با هیپرگلیسمی متوسط تا شدید و بروز اختلال در متابولیسم مواد غذایی شامل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها مشخص می‌گردد.^۲ افزایش سطح برخی لیپیدها در

در افزایش کیفیت زندگی این بیماران خواهد بود.^۴ استفاده از گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگرچه از دیرباز در درمان دیابت و عوارض ناشی از آن مطرح بوده است، درباره اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نشده است.^۵ در همین زمینه کاهش دادن سطح لیپیدهای نامطلوب سرم در بیماران دیابتی با استفاده از گیاهان دارویی از اهمیت بالینی بسیاری برخوردار است.^۶ با توجه به اینکه اثر هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک عصاره الکلی دانه شنبلیله^{۷-۸} و اثر هیپوگلیسمیک عصاره آبی برگ شنبلیله^{۹-۱۰} قبلاً به تأیید رسیده است و از سوی دیگر تجویز عصاره برگ این گیاه به میزان ۴۰ mg/kg در مردان داوطلب تغییر معنی داری در میزان کلسترول، پروتئین سرم و میزان اوره خون ایجاد نکرده است،^{۱۱} در تحقیق حاضر اثر هیپولیپیدمیک تجویز دراز مدت عصاره آبی برگ شنبلیله در مدل تجربی دیابت قندی (القا شده توسط استرپتوزوسین) در موش صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برای تهیه عصاره آبی برگ شنبلیله،^{۱۱} پس از خریداری گیاه در خرداد ماه و تأیید علمی و سیستماتیک آن توسط بخش گیاه‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی، برگ‌های سبز و تازه آن جدا و شسته شده در درجه حرارت اتاق در سایه خشک گردید. ۱۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده به یک لیتر آب در حال جوشیدن اضافه شد و مدت ۱۰ دقیقه حرارت دید. مخلوط به دست آمده سه بار از صافی رد شد و مایع به دست آمده بر روی بن‌ماری خشک گردید تا نهایتاً عصاره عسلی (۶۷٪) به دست آمد. سپس عصاره حاصل به فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد منتقل شد. قبل از تجویز آن به حیوان، غلظت مناسبی از عصاره در محلول سالین فیزیولوژیک استریل تهیه شد.

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۷۵-۲۲۵ در شروع بررسی استفاده شد. تمام حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی در دمای ۲۲-۲۰ در گروه‌های ۳-۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش دسترسی داشتند. برای

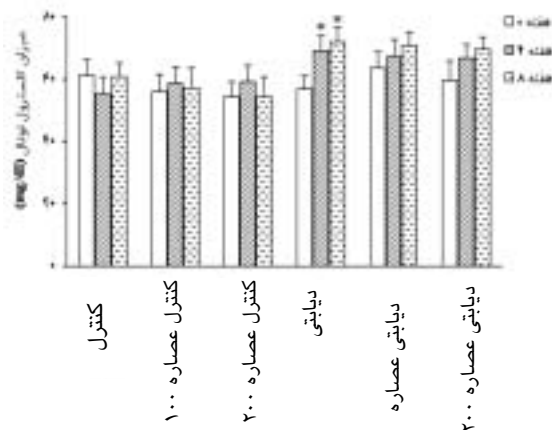
حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات انجام شد.

مدل دیابت قندی نوع ۱ (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی نر با یک بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (STZ) به میزان ۶۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد و از سرم فیزیولوژی به عنوان حلال STZ استفاده شد. ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق، سطح گلوکز سرم با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. ملاک دیابتی بودن حیوان، میزان گلوکز سرم بالاتر از ۲۵۰ mg/dL بود.^{۱۲} در این تحقیق حیوانات به شش گروه به شرح زیر تقسیم شدند: گروه شاهد (n=۱۰) گروه شاهد تحت تیمار با عصاره آبی برگ شنبلیله در دو دوز ۲۰۰ mg/kg و ۱۰۰ به صورت یک روز در میان (n=۱۶)، گروه دیابتی که داروی استرپتوزوسین داخل صفاقی به میزان ۶۰ mg/Kg (حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد) و سالین فیزیولوژیک به صورت یک روز در میان به مدت دو ماه هم حجم گروه‌های دیگر دریافت نمود (n=۱۰)، و گروه دیابتی تحت درمان با عصاره آبی برگ شنبلیله (n=۱۶) که عصاره را سه روز پس از دیابتی شدن در دو دوز ۲۰۰ mg/Kg و ۱۰۰ به روش داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت دو ماه دریافت نمود. پارامترهای مورد بررسی در این تحقیق، میزان وزن حیوان، گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، کلسترول LDL و HDL سرم در هفته قبل از بررسی و طی هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی بود. از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون ANOVA برای مقادیر تکرار شونده و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی از آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون توکی استفاده شد. سطح معنی‌دار $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

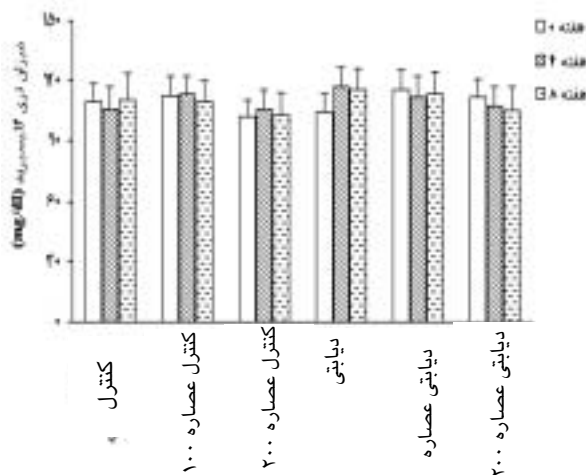
یافته‌ها

از نظر وزن حیوان، در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها یافت نشد. به علاوه، در موش‌های دیابتی درمان نشده یک کاهش معنی‌دار ($p < 0.01$) در وزن در هفته‌های چهارم (کاهش ۲۱٪) و هشتم (کاهش ۲۶٪) نسبت به هفته قبل از بررسی مشاهده شد. در گروه‌های شاهد و شاهد تحت تیمار با دو دوز عصاره آبی برگ

دیابتی درمان نشده می‌شود ($p < 0.05$). به علاوه با اندازه‌گیری کلسترول HDL (نمودار ۴) مشخص شد که این پارامتر در موش‌های دیابتی در مقایسه با هفته قبل از بررسی کاهش معنی‌داری یافته ($p < 0.05$) است و درمان موش‌های دیابتی با هر دو دوز عصاره آبی برگ شنبلیله موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده می‌گردد ($p < 0.01$).



نمودار ۱- اثر تجویز داخل صفاقی عصاره آبی برگ شنبلیله در دو دوز 100 و 200 mg/Kg یک روز در میان به مدت ۴ و ۸ هفته بر میزان کلسترول تام سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی شده. $p < 0.05$ * (در مقایسه با هفته قبل از بررسی)



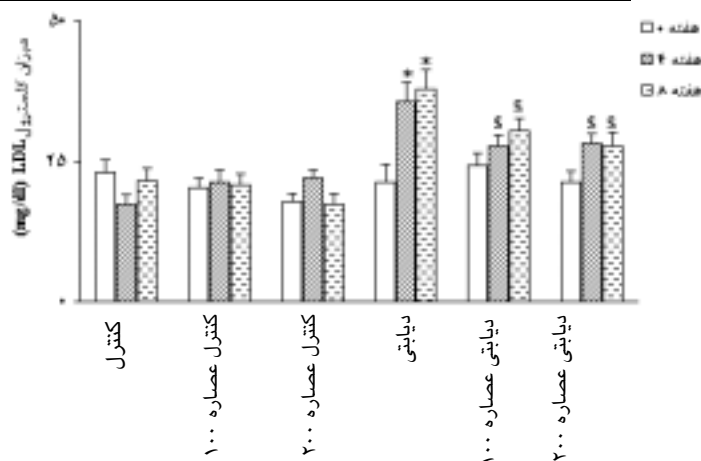
نمودار ۲- اثر تجویز داخل صفاقی عصاره آبی برگ شنبلیله در دو دوز 100 و 200 mg/Kg یک روز در میان به مدت ۴ و ۸ هفته بر میزان تری‌گلیسرید سرم در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی شده. $p < 0.01$ * (در مقایسه با هفته قبل از بررسی)؛ $p < 0.05$ \$ (در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده)

شنبلیله نیز افزایش وزن در هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی نسبت به هفته قبل از بررسی مشاهده شد. گروه‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره شنبلیله نیز مشابه گروه دیابتی درمان نشده کاهش معنی‌دار وزن را در هفته‌های چهارم و هشتم در مقایسه با هفته قبل از بررسی نشان دادند هر چند که این کاهش در گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره با دوز 200 mg/Kg کمتر از گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز 100 mg/Kg بود.

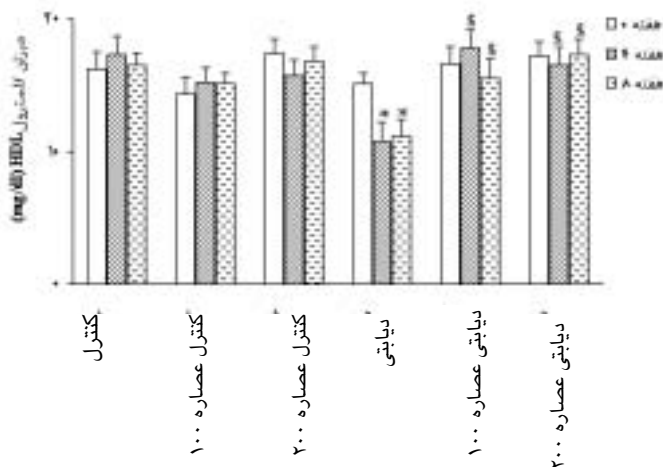
میزان کلسترول تام سرم در هفته قبل از بررسی و در پایان هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی تعیین شد (نمودار ۱). مشخص شد که در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها یافت نمی‌شود. به علاوه، در موش‌های دیابتی درمان نشده، افزایش معنی‌دار سطح کلسترول تام در هفته‌های چهارم و هشتم ($p < 0.05$) پس از بررسی در مقایسه با هفته قبل از بررسی مشاهده شد. به علاوه تیمار با عصاره آبی برگ شنبلیله تغییر معنی‌داری در سطح کلسترول تام گروه‌های مورد در هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد. همچنین، درمان موش‌های دیابتی با عصاره آبی برگ شنبلیله قادر به ایجاد کاهش معنی‌دار در سطح کلسترول تام سرم در هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نبود.

در زمینه میزان تری‌گلیسرید سرم مشخص شد که در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نمی‌شود (نمودار ۲). به علاوه، در موش‌های دیابتی درمان نشده، افزایش غیر معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید در هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در مقایسه با گروه مورد مشاهده شد. به علاوه تیمار با عصاره آبی برگ شنبلیله تغییر معنی‌داری در سطح تری‌گلیسرید گروه‌های شاهد در هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در مقایسه با هفته قبل از بررسی ایجاد نکرد. همچنین، درمان موش‌های دیابتی با عصاره آبی برگ شنبلیله قادر به ایجاد کاهش در سطح تری‌گلیسرید سرم در هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در مقایسه با گروه دیابتی نبود.

از نظر تغییرات کلسترول LDL (نمودار ۳) مشخص شد که دیابت در هفته‌های دوم و چهارم موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر در مقایسه با هفته قبل از بررسی شده ($p < 0.01$) تیمار موش‌های دیابتی با عصاره آبی به ویژه دوز mg/Kg 200 موجب کاهش معنی‌دار این پارامتر در مقایسه با گروه



نمودار ۳- اثر تجویز داخل صفاقی عصاره آبی برگ شنبلیله در دو دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/Kg یک روز در میان به مدت ۴ و ۸ هفته بر میزان کلسترول LDL سرم در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی شده؛ $p < 0.05$ * (در مقایسه با هفته قبل از بررسی).



نمودار ۴- اثر تجویز داخل صفاقی عصاره آبی برگ شنبلیله در دو دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/Kg به طور یک روز در میان به مدت ۴ و ۸ هفته بر میزان کلسترول HDL سرم در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی شده؛ $p < 0.01$ \$ (در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده)

بحث

نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی با تغییرات بارز در سطح لیپیدها و لیپوپروتئین‌های پلاسما همراه است. در

این زمینه، برخی بافت‌های بدن به ویژه کبد از نظر جذب اسیدهای چرب آزاد خون، اکسیداسیون و تبدیل متابولیک آنها به سایر مواد، افزایش سنتز کلسترول و فسفولیپیدها و ترشح برخی انواع لیپوپروتئین‌ها به داخل خون نقش مهمی دارند.^۱ به علاوه افزایش سطح برخی لیپیدها با افزایش خطر بیماری‌های قلبی - عروقی همراه است؛ به همین علت کاهش دادن سطح لیپیدهای سرم با استفاده از داروهای شیمیایی موجود و گیاهان دارویی از اهمیت بالینی زیادی برخوردار است.^۲ به علاوه، شواهد تحقیقاتی متعدد مبنی بر این موضوع یافت می‌شود که در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، هیپرلیسمی به همراه افزایش سطح تری‌گلیسرید و کلسترول رخ می‌دهد.^۳ از طرف دیگر، در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان یا استرپتوزوتوسین افزایش سطح گلوکز خون می‌تواند به افزایش سطح کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و VLDL سرم و کاهش سطح HDL منجر شود.^۴

در این مطالعه ایجاد دیابت قندی در موش‌های صحرایی به مدت ۲ ماه با افزایش معنی‌دار سطح کلسترول تام و کلسترول LDL و کاهش معنی‌دار سطح کلسترول HDL همراه بود و تیمار موش‌های دیابتی با عصاره آبی برگ شنبلیله به مدت دو ماه موجب کاهش معنی‌دار سطح کلسترول LDL و افزایش معنی‌دار کلسترول HDL سرم در مقایسه با موش‌های دیابتی درمان نشده، شد. از سوی دیگر، تیمار با این عصاره تغییر معنی‌دار در میزان کلسترول تام و تری‌گلیسرید سرم در موش‌های دیابتی ایجاد نکرد. با توجه به اثر هیپوگلیسمیک عصاره آبی برگ شنبلیله که قبلاً گزارش شده است،^{۵-۹} احتمالاً می‌توان کاهش سطح کلسترول LDL و افزایش سطح کلسترول HDL در حضور عصاره را به اثر پایین‌آوردگی قند خون آن نسبت داد. به علاوه چون گیاه شنبلیله حاوی مقادیر زیاد ساپونین‌ها و تانن‌هاست و این مواد خود جذب روده‌ای چربی‌ها را از دستگاه گزارش کاهش داده سبب مهار آنزیم‌های کلسترول استراز، سنتز کننده اسید چرب و استیل کوانزیم A کربوکسیلاز می‌شوند و با توجه به این موضوع که بررسی حاضر طی مدت زمان طولانی به انجام رسیده است، این احتمال وجود دارد که بخشی از اثربخشی این عصاره در مطالعه حاضر از این طریق به انجام رسیده باشد.^{۱۳-۱۲} در

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۰ است. ضمناً نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارشناس محترم دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، سرکار خانم فریبا انصاری جهت پیگیری در تهیه وسایل و مواد مورد نیاز تحقیق اعلام می‌دارند.

این بررسی، تجویز عصاره آبی برگ شنبلیله همچنان موجب افزایش نسبت کلسترول LDL/کلسترول HDL گردید که این در کاهش عوارض قلبی عروقی دیابت نیز می‌تواند مؤثر باشد.

نتایج این بررسی نشان داد که تیمار موش‌های دیابتی با عصاره آبی برگ شنبلیله موجب بهبود تغییرات نامطلوب کلسترول LDL و HDL می‌گردد که این امر در کاهش عوارض قلبی - عروقی ناشی از دیابت قندی می‌تواند مؤثر باشد.

References

1. American Diabetes Association: Clinical practice recommendation, screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997;20: 22-24.
2. Yanardag R, Bolkent S, Ozsoy-Sacan O, Karabulut-Bulan O. Related The effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on the kidney tissue, serum urea and creatinine levels of diabetic rats. *Phytother Res*. 2002;16(8):758-61
3. Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. *J Diabetes Complications*. 2002;16(1):65-8.
4. Mathieu C. Can we reduce hypoglycaemia with insulin detemir? *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28 Suppl 2:S35-40.
5. Ivorra MD, Paya M, Villar A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J Ethnopharmacol*. 1989;27(3):243-75.
6. Choi JS, Yokozawa T, Oura H. Improvement of hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-diabetic rats by a methanolic extract of *Prunus davidiana* stems and its main component, prunin. *Planta Med*. 1991;57(3):208-11
7. Puri D, Prabhu KM, Murthy PS. Mechanism of action of a hypoglycemic principle isolated from fenugreek seeds. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2002;46(4):457-62
8. Madar Z, Stark AH. New legume sources as therapeutic agents. *Br J Nutr*. 2002;88 Suppl 3:S287-92
9. Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakiem MH. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 1997;58(3):149-55.
10. Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Jawad AM, al-Hakiem MH. Hypoglycaemic effect of aqueous extract of the leaves of *Trigonella foenum-graecum* in healthy volunteers. *East Mediterr Health J*. 2000;6(1):83-8.
11. Javan M, Ahmadiani A, Semnani S, Kamalinejad M. Antinociceptive effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract. *J Ethnopharmacol*. 1997;58(2):125-9.
12. Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, Furukawa Y, Furukawa S. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol*. 2002;24(5):695-701
13. Sauvaire Y, Ribes G, Baccou JC, Loubatieeres-Mariani MM. Implication of steroid saponins and saponin in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. *Lipids*. 1991;26(3):191-7.
14. Sauvaire Y, Baissac Y, Leconte O, Petit P, Ribes G. Steroid saponins from fenugreek and some of their biological properties. *Adv Exp Med Biol*. 1996;405:37-46

Original Article

Hypolipidemic effect of aqueous leaf extract of *Trigonella foenum-graecum* in diabetic rats

Roghani M¹, Baluchnejadmojarad T², Roghani Dehlordi F³

1. Dept. Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran.

2. Dept. Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Dept. Cardiology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Abstract

Introduction: Considering the hypoglycemic and hypolipidemic effect of the fenugreek seed and hypoglycemic effect of its leaf, this study was conducted to evaluate the hypolipidemic effect of its aqueous leaf extract. **Materials and Methods:** Male Wistar rats were divided into control, extract-treated control, diabetic, and extract-treated diabetic groups. Fenugreek extract was administered at doses of 100 and/or 200 mg/Kg (i.p) every other day three days after the induction of diabetes for a period of 2 months. Serum total cholesterol, triglyceride, LDL- and HDL-cholesterol levels were measured one week before the study and again 4 and 8 weeks after the experiment. **Results:** Serum total cholesterol significantly increased ($p < 0.05$) in diabetic rats, with the extract treatment having no effect in this respect; there was a non-significant increase in triglyceride levels in diabetic rats again with no effect of extract treatment. On the other hand, LDL- and HDL cholesterol levels significantly increased ($p < 0.01$) and decreased ($p < 0.05$) in diabetic rats respectively, and administration of the extract significantly ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) reversed these changes. **Conclusion:** The results showed that treatment of diabetic rats with aqueous extract of fenugreek could improve the inappropriate changes in LDL- and HDL-cholesterol and this could reduce the ensuing cardiovascular complications caused by diabetes mellitus.

Key words: Fenugreek, Diabetes mellitus, Triglyceride, Total cholesterol, LDL, HDL, Rat