فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲٤، شمارهٔ ۲ صفحهٔ ۱٦۱-۱٤۸ (۱۳۸۷)

اثر هیپوگلیسمی و هیپولیپیدمی عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) در رت‌های دیابتی‌شده با آلوکسان منوهیدرات در مقایسه با گلی‌بنکلامید

نارگل احمدی محمودآبادی*[۱]، حسین مدنی[۲] و پروین محزونی[۳]

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اصفهان.
۲- دکترای فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اصفهان
۳- دکترای پاتولوژی، گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: nargol_ahmadi2001@yahoo.com

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸٦ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۷

چکیده

کنگرفرنگی با نام علمی *Cynara scolymus* L. گیاهی از خانواده کاسنی (Compositae) است. در این تحقیق تأثیر عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی بر میزان گلوکز، لیپیدها و لیپوپروتئینهای سرمی در رت‌های دیابتی‌شده با آلوکسان منوهیدرات مورد بررسی قرارگرفت. همچنین اثر عصاره بر بافت پانکراس آسیب‌دیده بررسی شد و با داروی شیمیایی گلی‌بنکلامید مقایسه گردید. به این منظور از ۲۰ رت نر بالغ به وزن متوسط ۲۵۰-۲۰۰ گرم در چهار گروه پنج‌تایی استفاده شد. به رت‌های گروه شاهد، هم حجم مواد تزریقی سرم فیزیولوژی تزریق گردید. رت‌های گروه دوم با دریافت آلوکسان منوهیدرات به میزان ۱۲۰ mg/kg/bw دیابتی شدند. گروه سوم علاوه بر تیمار مشابه گروه دوم، گلی‌بنکلامید با دوز ۰/۵ mg/kgbw دریافت نمودند. گروه چهارم بعد از دیابتی شدن، عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی با دوز ۳۰۰ mg/kgbw دریافت نمودند. تجویز مواد در همه گروهها به صورت تزریق داخل صفاقی انجام گرفت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که عصاره کنگرفرنگی میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، VLDL و LDL را نسبت به گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و در مورد HDL نیز افزایش معنی‌داری را سبب می‌شود ($p< ۰/۰۵$). همچنین کنگرفرنگی میزان گلوکز را در حد گروه گلی‌بنکلامید کاهش داده است، اما در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری دارد. اثر این گیاه بر سایر فاکتورهای مورد بررسی در حد گروه گلی‌بنکلامید و گروه شاهد می‌باشد ($p>۰/۰۵$). نتایج مطالعات بافت‌شناسی، مؤید این بخش است. براساس نتایج بافت‌شناسی، عصاره تأثیر معنی‌داری در افزایش اندازه جزایر پانکراسی، تعداد سلولهای جزایر و میزان تکثیر سلولی نسبت به گروه دیابتی داشته است. این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی، تأثیر قابل توجهی در کاهش قند خون، لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرمی در موشهای صحرایی دیابتی شده دارد. همچنین عصاره در بازسازی بافت پانکراس آسیب دیده مؤثر بوده است.

واژه‌های کلیدی: دیابت، کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.)، آلوکسان منوهیدرات، گلی‌بنکلامید.

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

گیاهان دارویی منابع غنی از آنتی‌اکسیدانهای طبیعی هستند. این گیاهان در طب سنتی برای کنترل و درمان بسیاری از بیماریها بکار می‌روند. برآورد شده بیش از ۸۰۰ نوع از گیاهان به عنوان داروی محلی سنتی برای درمان دیابت استفاده می‌شود. اثر هیپوگلیسمی تعداد زیادی از این گیاهان در نمونه‌های حیوانی و مطالعات بالینی بررسی شده و مورد تأیید قرار گرفته است. کنگرفرنگی با نام علمی *Cynara scolymus* L. گیاهی از خانواده کاسنی (Compositae) است (مظفریان، ۱۳۷۵). این گیاه از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان است که در طول هزاران سال کشت شده است، در زبان انگلیسی آرتیشو و در زبان فارسی کنگرفرنگی، آرتیشو، انگنار و اردهشاهی خوانده می‌شود. این گیاه بومی جنوب اروپا، مدیترانه، شمال آفریقا و جزایر قناریست. در ایران به صورت خودرو مشاهده نمی‌شود و تنها در برخی از مناطق کشور از جمله قزوین و اندیمشک به صورت محدود کشت می‌شود. قسمت مورد استفاده کنگرفرنگی ریشه و اندامهای هوایی آن است (ناظمیه، ۱۳۸۱؛ ضیایی و همکاران، ۱۳۸۳).

طبق کتب طب سنتی مصرف کنگرفرنگی در بیماریهای مختلف مثل مرض قند، چاقی، کهیر، آسم، سنگ کلیه، تصلب شرائین، رماتیسم و بیماریهای پوست نظیر اگزما و التهاب مفید است (زرگری، ۱۳۷۰). Kraft در تحقیقی در سال ۱۹۹۷ نشان داد که تجویز عصاره کنگرفرنگی به بیماران دچار سوء هاضمه و افرادی که به بیماری کبدی مبتلا بودند، نشانه‌های بیماری نظیر درد شکم، تهوع و نفخ را به صورت معنی‌دار کاهش می‌دهد (Kraft, 1997). Zhu و همکاران (۲۰۰۴)، ترکیبهای فنلی موجود در عصاره برگ کنگرفرنگی را مورد بررسی قرار داده و فعالیت ضد میکروبی آنها را نشان دادند (Zhu *et al.*, 2004). در مطالعات حیوانی انجام شده بر روی موش صحرایی اثرهای صفرا آور، پایین‌آورنده کلسترول و چربی خون توسط عصاره‌های تام و خالص‌سازی شده کنگرفرنگی به اثبات رسیده است (ناظمیه، سال انتشار). فلاونوئیدهای کنگرفرنگی بیان ژن نیتریک اکساید سنتتاز را در سلولهای اندوتلیال انسان در سطح بالا تنظیم می‌کنند (Li *et al.*, 2004). همچنین عصاره این گیاه اختلال فعالیت اندوتلیالی که اولین مرحله بیماری آترواسکلروز است، را بهبود می‌بخشد (Lupattelli *et al.*, 2004). اثر کنگرفرنگی در ترمیم و نوسازی بافت کبدی در موشهای صحرایی گزارش شده است. براساس نتایج تحقیقات انجام شده، مصرف عصاره کنگرفرنگی می‌تواند تعداد سلولهای کبدی و غلظت RNA داخل سلولی را افزایش دهد. براساس این یافته‌ها سینارین دارای اثر حفاظتی قابل توجهی بر کبد است (Molien, 1998).

گلی‌بنکلامید از دسته داروهای ضددیابتی سولفونیل اوره‌هاست که به صورت قرصهای پنج میلی‌گرمی در دسترس بیماران دیابتی قرار می‌گیرد. گلی‌بنکلامید با اثر بر سلولهای بتا در جزایر پانکراس و بافتهای دیگر مثل کبد، عضله و چربی میزان قند خون را کاهش می‌دهد. مکانیسم عمل این دارو در سلولهای بتا به این صورت است که ابتدا به گیرنده سطحی در سلولهای بتای جزایر متصل و متعاقب این عمل جریان کانالهای پتاسیمی حساس به ATP کاهش یافته و کانال مهار می‌شود. با مهار کانالهای پتاسیمی حساس به ATP، کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ باز می‌شوند و کلسیم وارد سلول می‌گردد. متعاقب افزایش غلظت کلسیم سیتوزولی، گرانولهای ترشحی حاوی انسولین به غشاء پلاسمایی متصل می‌شوند که این عمل با واسطه پروتئین کنیاز11 وابسته به کلسیم-

Archive of SID
www.SID.ir

کالمودولین صورت می‌گیرد و به این ترتیب سبب ترشح انسولین از سلولهای بتا می‌گردد. مکانیسم عمل یاد شده در بین داروهای سولفونیل اوره‌ها بیشتر برای گلی‌بنکلامید ذکر شده است (Luzi & Pozza, 1997).

در بخشی از این تحقیق تأثیر عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی بر میزان گلوکز، لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرمی در رت‌های دیابتی‌شده با آلوکسان منوهیدرات مورد بررسی قرار گرفت. همچنین مقایسه‌ای نیز بین اثر این عصاره و داروی شیمیایی گلی‌بنکلامید انجام شد. در بخش دیگر، جزایر لانگرهانس پانکراس از لحاظ بافت‌شناسی در بین گروههای آزمایشی بررسی شد.

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه

ساقه و برگ کنگرفرنگی از اداره منابع طبیعی استان اصفهان، بخش تحقیقات گیاهان دارویی تهیه و مورد تأیید کارشناسان آن مرکز قرار گرفت. به منظور عصاره‌گیری، ابتدا ساقه و برگ گیاه جداسازی و در شرایط سایه و دمای ۲۵ـ۲۰ خشک گردید.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی

به منظور عصاره‌گیری، ساقه و برگ خشک‌شده گیاه توسط دستگاه خرده‌کننده پودر شد. ۱۰۰ گرم از پودر گیاه درون ارلن یک لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶ درصد اضافه گردید، به‌گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند. بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف شد. در مرحله بعد به تفاله باقی‌مانده، الکل ۷۰٪ اضافه و بعد از ۱۲ ساعت صاف شد. سپس محلول صاف شده مرحله اول و مرحله دوم توسط دستگاه تقطیر در خلأ در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ گردید. به منظور جداسازی پروتئینها، چربیها و کلروفیل، محلول صاف‌شده توسط کلروفرم دکانته شد. در هر مرحله دکانته‌کردن دو فاز تشکیل می‌گردید که فاز کلروفرمی خارج شده و فاز آبی برای مرحله بعد نگه داشته می‌شد. محلول بدست آمده از آخرین مرحله در پتری‌دیش ریخته شد و در اتوکلاو و دمای زیر ۵۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط استریل خشک گردید. قبل از شروع تیمار، ۳ گرم از عصاره خشک در ۱۰ میلی‌لیتر از سرم فیزیولوژی حل شده و محلولی با غلظت ۰/۳gr/ml تهیه گردید که با دوز مشخص ۳۰۰ mg/kgbw به حیوانات تزریق می‌شد. انتخاب این دوز از عصاره براساس آزمایشهای اولیه صورت گرفت، به این علت که دوز پایین‌تر و همچنین دوزهای بالاتر از ۳۰۰ mg/kgbw نتیجه مطلوبی در بر نداشتند.

حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق از رت‌های نر بالغ با نام علمی *Rattus norvegicus allivias* از نژاد Wistar به وزن حدود ۲۵۰–۲۰۰ گرم، استفاده شد. رت‌ها از لانه حیوانات دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان خریداری گردیدند و در لانه حیوانات دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی نگهداری شدند. این حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت مناسب نگهداری شدند. در ضمن، تغذیه حیوانات نیز از غذای آماده استاندارد (تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس) و بدون محدودیت انجام گرفت.

روش ایجاد دیابت در رت‌ها

برای ایجاد دیابت تجربی در رت‌ها از ماده شیمیایی آلوکسان منوهیدرات (تهیه شده از شرکت سیگما) به

Archive of SID
www.SID.ir

میزان mg/kgbw ۱۲۰ استفاده شد. این ماده ابتدا در سرم فیزیولوژی حل و در طی ٦ روز به صورت یک روز در میان به روش داخل صفاقی به حیوانات تزریق گردید. انتخاب این دوز از ماده با توجه به مطالعات انجام شده در این زمینه توسط Sabu و Kuttan (۲۰۰۲) و همچنین انجام آزمایشهای مقدماتی صورت گرفت.

گروه‌بندی و تیمار رت‌ها

به منظور انجام آزمایشها ۲۰ رت به طور تصادفی به چهار گروه پنج‌تایی توزیع و با علامتهایی بر روی دم نشانه‌گذاری شدند. نگهداری هر گروه در قفس جداگانه صورت گرفت. گروه اول (شاهد)، هم حجم مواد تزریقی سرم فیزیولوژی دریافت نمودند. این عمل به منظور ایجاد شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. گروه دوم (دیابتی‌شده)، آلوکسان منوهیدرات با دوز mg/kgbw ۱۲۰ در طی ٦ روز به صورت یک روز در میان دریافت نمودند. گروه سوم (دیابتی‌شده + گلی‌بنکلامید)، ابتدا با تزریق آلوکسان منوهیدرات با دوز mg/kgbw ۱۲۰ در طی ٦ روز به صورت یک روز در میان دیابتی شدند، سپس گلی‌بنکلامید را با دوز mg/kgbw ۰/۵ در طی ۱۰ روز به صورت یک روز در میان دریافت نمودند. گروه چهارم (دیابتی‌شده + کنگرفرنگی)، ابتدا با تزریق آلوکسان منوهیدرات با دوز mg/kgbw ۱۲۰ در طی ٦ روز به صورت یک روز در میان دیابتی شدند، سپس عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی با دوز mg/kgbw ۳۰۰ در طی ۱۰ روز به طور یک روز در میان دریافت نمودند. تجویز تمام مواد به صورت تزریق داخل صفاقی انجام گرفت و در طی آزمایش میزان گلوکز خون با استفاده از دستگاه آنالیز خودکار (گلوکومتر) اندازه‌گیری شد.

بررسی بیوشیمیایی

٤٨ ساعت پس از آخرین تزریق، رت‌ها توسط کلروفرم بیهوش شدند و خون‌گیری به طور مستقیم از قلب حیوان انجام گرفت. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده، ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس با دور ۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. آنگاه سرم آنها جدا گردید. به منظور ارزیابی و مقایسه عملکرد عصاره نسبت به گروههای دیگر، غلظت سرمی گلوکز، کلسترول تام، تری‌گلیسرید، VLDL، HDL و LDL به روش آنزیمی و با استفاده از کیت‌های تجاری (زیست شیمی، تهیه شده از شرکت یاسا طب) اندازه‌گیری شد. این فاکتورها از شاخصهای کلینیکی در تشخیص دیابت هستند.

بررسی بافت‌شناسی

بلافاصله پس از خون‌گیری، پانکراس هر رت از بدن خارج و برای تثبیت در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت.

رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین

به این منظور، برشهای بافتی ٤ میکرونی تهیه شده با استفاده از هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در این رنگ‌آمیزی مورفولوژی جزایر پانکراسی در گروههای مختلف مقایسه گردید. به این منظور به طور تصادفی سه مقطع از هر گروه انتخاب شده و در هر مقطع چهار جزیره مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی جزایر، قطر بزرگ جزایر اندازه‌گیری و تعداد کل سلولهای هر جزیره شمارش شد.

رنگ‌آمیزی Agnor (Argyrophilic Nuclear Organizer Region)

به این منظور، برشهای بافتی ٤ میکرونی تهیه شده با محلول Agnor رنگ‌آمیزی شدند. در نتیجه رنگ‌آمیزی،

Archive of SID
www.SID.ir

نقاط نقره‌دوست هستکی به صورت نقاط سیاه رنگ داخل هسته نمایان می‌شوند و هسته‌ها رنگ قهوه‌ای روشن را به خود می‌گیرند. از رنگ‌آمیزی Agnor جهت تشخیص میزان تکثیر سلولی در جزایر پانکراسی استفاده شد. به این منظور سه مقطع به طور تصادفی از هر گروه انتخاب و در هر مقطع چهار جزیره بررسی گردید. به این ترتیب، متوسط ۱۰۰ هسته از ۱۲ جزیره در هر گروه انتخاب و از لحاظ تعداد متوسط نقاط رنگ گرفته با نقره، درصد سلولهای دارای هسته با حداقل ۲ تا ٤ نقطه رنگ گرفته با نقره و درصد سلولهایی که هسته آنها فاقد این نقاط بوده و یا تعداد کمتر از ۲ را دارند، مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در بررسی نتایج بیوشیمیایی برای مقایسه میانگین گروههای آزمایشی از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیری MANOVA (Multivariate) استفاده شد. آنالیز آماری اطلاعات بدست آمده از مطالعات بافت‌شناسی نیز با استفاده از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس ANOVA انجام پذیرفت. سپس هر پارامتری که در این آزمونها تفاوت نشان داد وارد آزمون دانکن شده و میانگین گروهها به صورت دو به دو مقایسه گردید. آزمونها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS انجام پذیرفت. کلیه نمودارهای مربوط نیز، در برنامه نرم‌افزاری Excel رسم شد.

نتایج

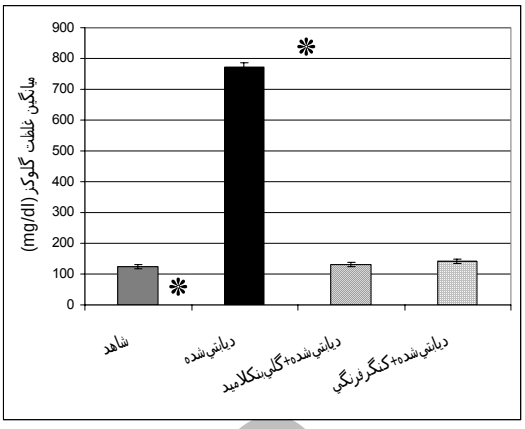
نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که عصاره کنگرفرنگی میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، VLDL و LDL را نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و در مورد HDL نیز افزایش معنی‌داری را سبب می‌شود ($p< ۰/۰۵$). همچنین نتایج حاکی از آن است که کنگرفرنگی میزان گلوکز را در حد گروه گلی‌بنکلامید کاهش داده است، اما در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار دارد. اثر این گیاه بر سایر فاکتورهای مورد بررسی در حد گروه گلی‌بنکلامید است و با گروه شاهد نیز تفاوت معنی‌داری ندارد ($p>۰/۰۵$).

نتایج بافت شناسی

در برشهای تهیه شده از پانکراس گروه دیابتی، بیشتر جزایر کوچک و به ندرت دارای سایز متوسط بودند. سلولهای پیکنوتیک به‌خصوص در جزایر کوچک به وضوح مشاهده گردید. این سلولها سیتوپلاسم پر رنگ و هسته کوچک و متراکم دارند که به اصطلاح گفته می‌شود سلول شرینک (Shrink) شده است. سلولهای پیکنوتیک در جزایر گروههای دیگر نامشخص بود. در برشهای بافتی گروه تیمارشده با گلی‌بنکلامید وضعیتی شبیه به گروه دیابتی مشاهده گردید. اندازه جزایر در این گروه تفاوت چندانی با گروه دیابتی نداشت. در برشهای پانکراس گروه تیمار شده با عصاره کنگرفرنگی، قطر بیشتر جزایر افزایش یافته و نسبت به گروه دیابتی و شاهد تعداد سلول بیشتری را دارا می‌باشند (شکلهای ۵-۱).

Archive of SID

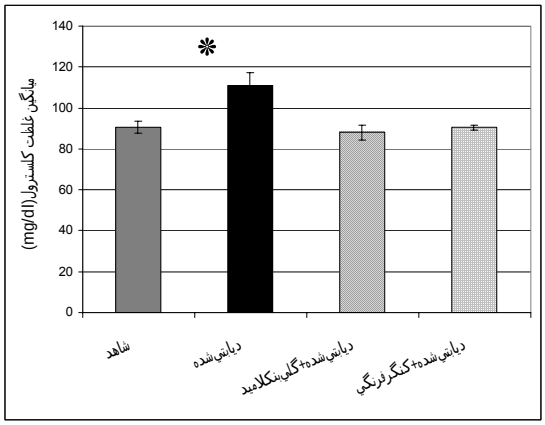
www.SID.ir



نمودار ۱- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر غلظت سرمی گلوکز

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد

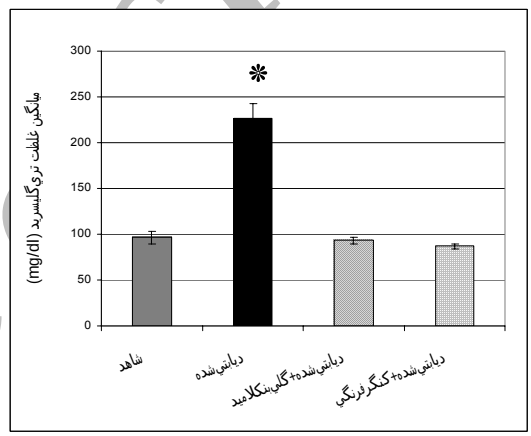
علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است



نمودار ۲- تأثیر عصاره کنگرفرنگی برغلظت‌سرمی‌کلسترول

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

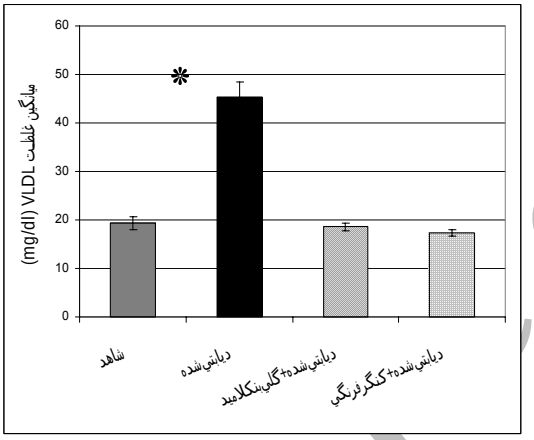
علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.



نمودار ۳- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر غلظت سرمی تری گلیسرید

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

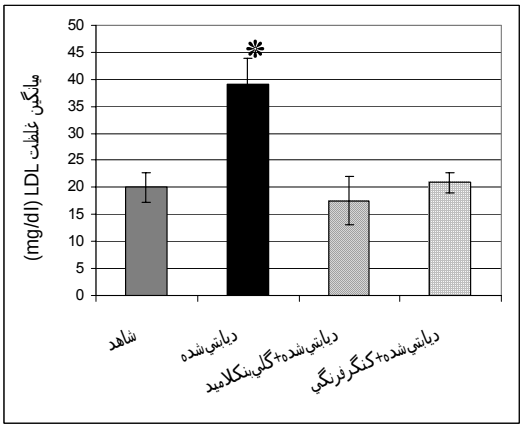
علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.



نمودار ٤- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر غلظت سرمی VLDL

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

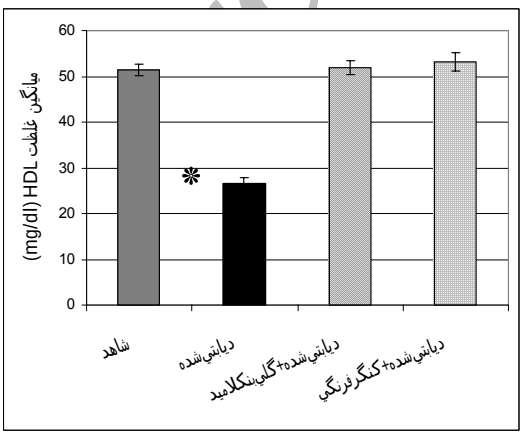
علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.



نمودار ۵- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر غلظت سرمی LDL

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.

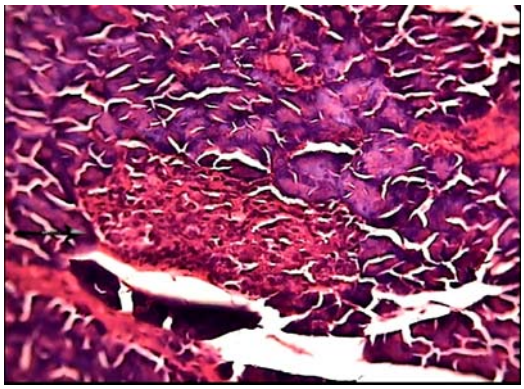


نمودار ٦- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر غلظت سرمی HDL.

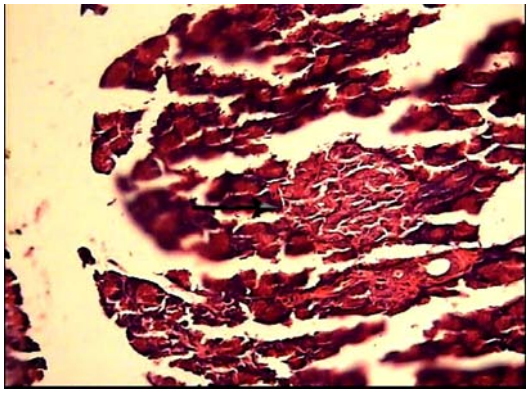
هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.

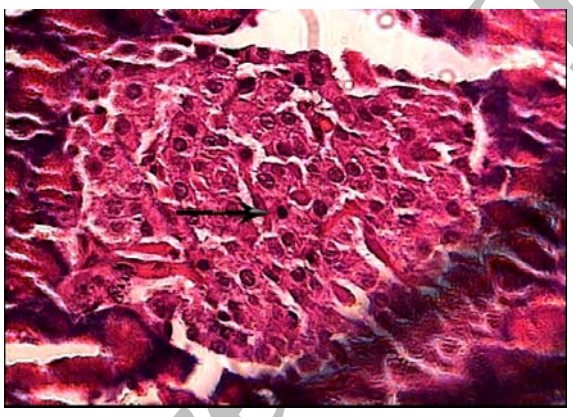
www.SID.ir



شکل ۱- مقطع عرضی پانکراس گروه شاهد با بزرگ‌نمایی ٤۰X در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

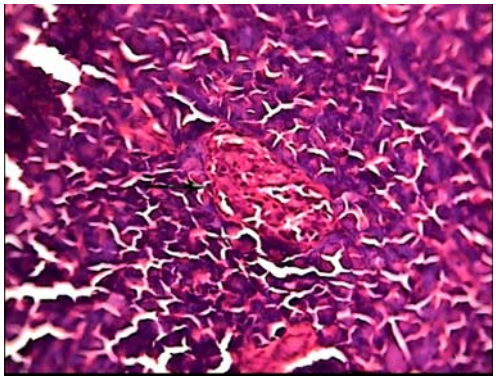


شکل ۲- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی با بزرگ‌نمایی ٤۰X در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

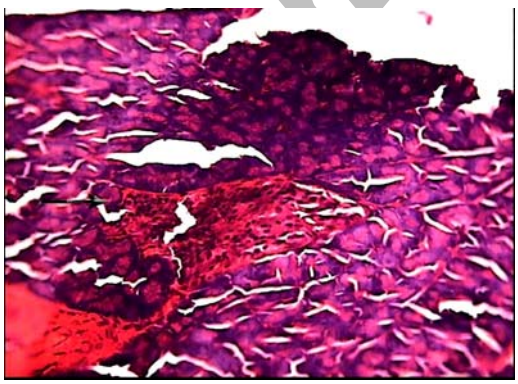


شکل ۳- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ X در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

سلولهای پیکنوتیک قابل مشاهده هستند.



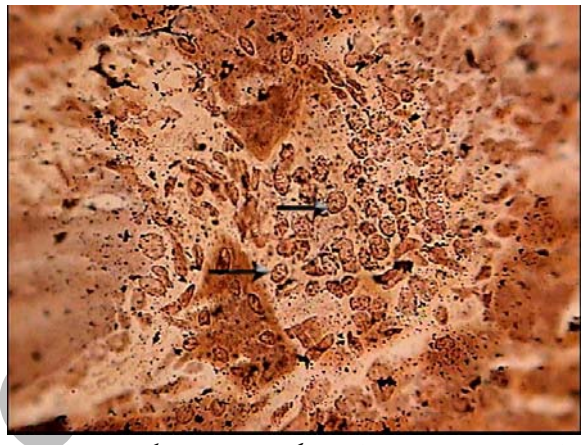
شکل٤- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی تیمار شده با گلی‌بنکلامید با بزرگ‌نمایی ٤۰X در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین



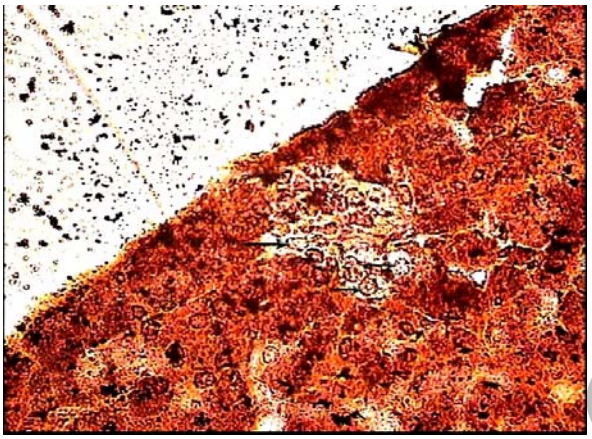
شکل۵- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی تیمار شده با عصاره کنگرفرنگی با بزرگ‌نمایی ٤۰X در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

www.SID.ir

بررسی مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده با Agnor نشان داد که تعداد نقاط نقره‌دوست هستکی در جزایر گروه دیابتی شده و همچنین گروه تحت تیمار گلی بنکلامید بسیار کم و نسبتاً کوچک می‌باشند. در جزایر گروههای تیمار شده با عصاره تعداد این نقاط بیشتر و اندازه نسبتاً درشت‌تری را دارا هستند. در این گروهها بیشتر سلولها نقاط نقره‌دوست هستکی را دارا بودند (شکلهای ۹-٦). جهت مقایسه تعداد این نقاط در بین گروههای آزمایشی، محدوده تغییرات ۲ >n و ٤>n>۲ مشخص شد (n، تعداد نقاط نقره‌دوست هستکی را نشان می‌دهد) و سپس درصد سلولهای حاوی نقاط نقره‌دوست هستکی در هر یک از گروههای آزمایشی تعیین گردید.

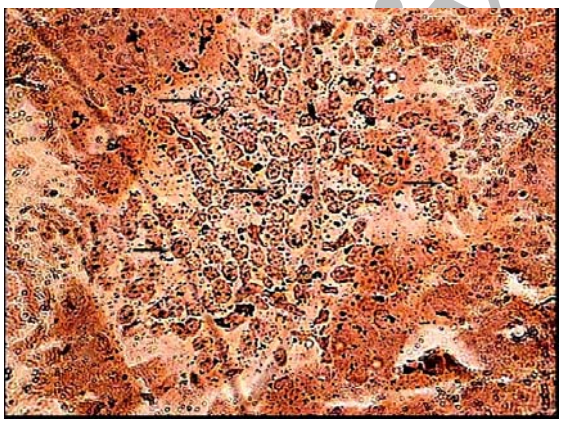


شکل ٦- مقطع عرضی پانکراس گروه شاهد با بزرگ‌نمایی شکل ۱۰۰X در رنگ‌آمیزی Agnor



۷- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰X در رنگ‌آمیزی Agnor

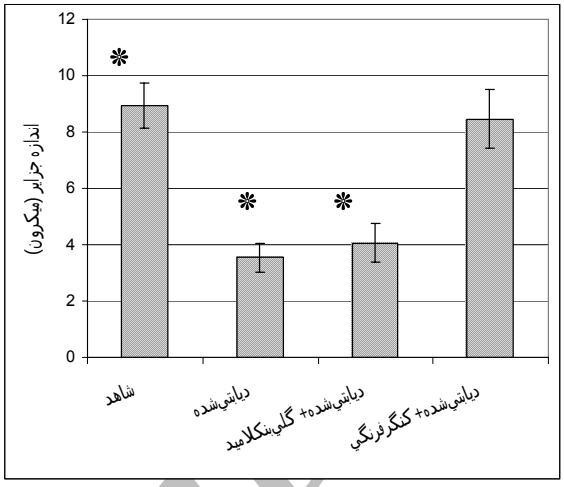
شکل ۸- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی تیمار شده با گلی‌بنکلامید با بزرگ‌نمایی X ۱۰۰ در رنگ‌آمیزی Agnor



شکل ۹- مقطع عرضی پانکراس گروه دیابتی تیمار شده با عصاره کنگرفرنگی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰X در رنگ‌آمیزی Agnor

در بخش دیگر، نتایج بررسی اندازه جزایر پانکراسی، تعداد کل سلولهای جزایر و میزان تکثیر سلولی مورد آنالیز آماری قرار گرفتند که در نمودارهای ٦، ۷ و ۸ آورده شده است.

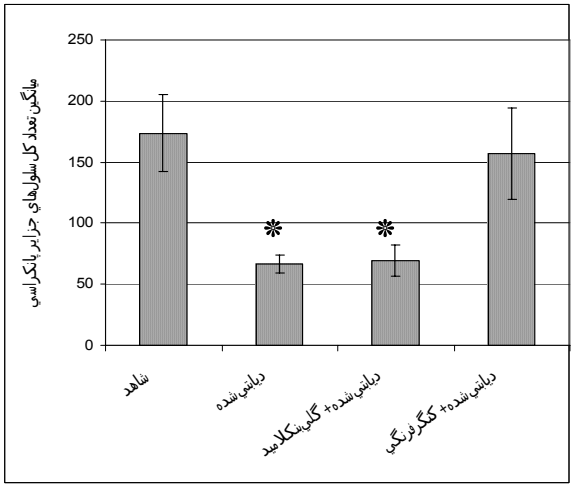
www.SID.ir



نمودار ٦- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر اندازه جزایر پانکراسی

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

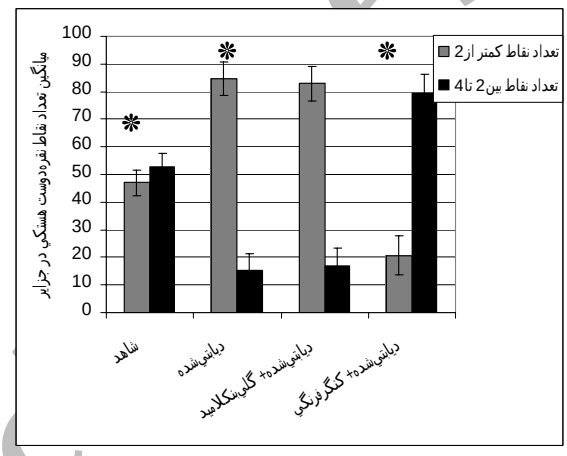
علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.



نمودار۷- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر تعداد کل سلولهای جزایر پانکراسی

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.



نمودار۸- تأثیر عصاره کنگرفرنگی بر میزان تکثیر سلولی

هر ستون Mean ± SD را نشان می‌دهد.

علامت ستاره بیانگر سطح معنی‌داری ۰/۰۵ >p است.

بحث

کنگرفرنگی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان است. طبق گزارش Fritsche و Beindorff (۲۰۰۲) سینارین، کلروژنیک اسید، لوتئولین و فرم گلیکوزید آن، سیناروزید، عمده‌ترین ترکیبهای موجود در کنگرفرنگی هستند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند (Fritsche & Beindorff, 2002). تحقیقات خاصیت ضد دیابتی کلروژنیک اسید را نشان می‌دهند (Arion *et al*., 1997؛ Cetto & Wiedenfeld, 2001) و احتمالاً یکی از دلایل کاهش قند خون توسط کنگرفرنگی مربوط به این ترکیب است. نتیجه تحقیق Shimoda و همکاران (۲۰۰۳) بیانگر این مطلب است که عصاره متانولی برگ کنگرفرنگی غلظت افزایش

www.SID.ir

یافته تری‌گلیسرید را کاهش می‌دهد (Shimoda *et al.*, 2003). نتایج ما در بخش اثر کنگرفرنگی بر میزان کلسترول سرمی با نتایج Pittler و همکاران (۲۰۰۲) مشابه می‌باشد. این محققان اثر بالینی عصاره را بر بیماران هیپرکلسترولمی مورد بررسی قرار دادند. بررسیهای انجام شده نشان می‌دهند که کنگرفرنگی در کاهش لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها از طریق دخالت در مسیر بیوسنتز کلسترول و همچنین اثر بر تولید و ترشح صفرا در کبد عمل می‌کند. تنظیم سنتز کلسترول در آغاز مسیر و در مرحله هیدروکسی متیل‌گلوتاریل-کوآنزیم A ردوکتاز (Hydroxy methyl glutaryl – COA reductase) صورت می‌گیرد. این آنزیم واکنش احیایی تبدیل هیدروکسی متیل‌گلوتاریل کوآنزیم A را به موالونات کاتالیز می‌کند. نتیجه تحقیق Gebhardt (۱۹۹۸)، حاکی از این است که عصاره کنگرفرنگی بیوسنتز کلسترول را در هپاتوسیت‌های کشت شده رت مهار می‌کند. این عمل با مهار غیرمستقیم آنزیم HMG-COA ردوکتاز صورت می‌گیرد (Gebhardt, 1998). اگرچه هنوز به طور کامل مشخص نشده است که تمام مراحل بیوسنتز کلسترول توسط این مواد تحت تأثیر قرار می‌گیرد، سینارین و لوتئولین موجود در کنگرفرنگی در سنتز کلسترول دخالت دارند. براساس آزمایشهای invitro، لوتئولین بیوسنتز کلسترول را تا ٦٠٪ مهار می‌کند.

کنگرفرنگی دارای اثر صفرا آور است. صفرا نقش بسیار مهمی در هضم و جذب چربیها دارد و به عنوان یک وسیله بسیار مهم برای دفع کلسترول عمل می‌کند. کلسترول ماده پیش‌ساز اسیدهای صفراوی است و در جریان ترشح املاح صفراوی، کلسترول نیز به داخل صفرا ترشح می‌گردد (شادان، ۱۳۷۸). Blumenthal (۱۹۹۸) بیان کرد که عصاره کنگرفرنگی اثر کاهشی بر میزان کلسترول دارد. این عمل از طریق کاهش سنتز کلسترول در کبد و افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی صورت می‌گیرد. اثر کنگرفرنگی بر تحریک تولید صفرا و افزایش دفع صفراوی لیپیدها و اسیدهای صفراوی گزارش شده است (Rodriguez *et al.*, 2002؛ Speroni *et al.*, 2003). سینارین موجود در برگ کنگرفرنگی بر تولید و ترشح صفرا اثر دارد. با مهار بیوسنتز کلسترول و افزایش دفع صفراوی آن در کبد، میزان کلسترول خون کاهش می‌یابد. متعاقب کاهش کلسترول از میزان LDL نیز کاسته می‌گردد. از طرفی افزایش کاتابولیسم LDL نیز می‌تواند دلیل دیگری برای کاهش LDL در گروههای تیمار شده با عصاره باشد. فلاونوئیدهای کاتشین، اپی‌کاتشین، کوئرستین، نارینجنین و اسیدهای فنلی نظیر گالیک اسید بیان گیرنده LDL را در هپاتوسیت‌های کبدی افزایش می‌دهند. این ترکیبهای آنتی‌اکسیدان گیاهی اثر مهاری بر سنتز آپوپروتئین B_{100} در سلولهای کبدی دارند. به این ترتیب پلی‌فنل‌ها تولید لیپوپروتئین را در کبد کاهش داده و کلیرانس آنها را در سلولهای کبدی افزایش می‌دهند (Borradaile *et al.*, 2003؛ Pal *et al.*, 2003). افزایش میزان HDL می‌تواند به علت افزایش ترشح آپو A-1 باشد که بخش اصلی آپوپروتئین HDL را تشکیل می‌دهد. افزایش HDL در گروههای تیمار شده با عصاره می‌تواند دلیلی برای کاهش کلسترول باشد. کاهش تری‌گلیسرید و VLDL، احتمالاً به دلیل فعالیت شبه انسولینی عصاره کنگرفرنگی است که لیپوپروتئین لیپاز عروقی را فعال می‌کند. این آنزیم تری‌گلیسریدها را تجزیه کرده و غلظت آنها را در خون کاهش می‌دهد. با توجه به این که تری‌گلیسرید در سنتز VLDL شرکت دارد، به نظر

Archive of SID

www.SID.ir

می‌رسد کاهش VLDL در نتیجه فعالیت LPL و کاهش تری‌گلیسرید صورت می‌گیرد.

ترکیبهای آنتی‌اکسیدان گیاهی اثر ترمیم و بازسازی نیز بر سلولها و بافتهای آسیب دیده دارند. این آنتی‌اکسیدانها با اثر بر مسیرهای پیام‌رسانی سلولی، افزایش مقدار mRNA و همچنین افزایش تقسیم سلولی را موجب می‌شوند. تحقیقات نشان داده که در شرایط in vitro تیمار جزایر پانکراسی رت با کوئرسین، سبب افزایش تعداد این جزایر می‌گردد. این عمل به علت افزایش همانندسازی DNA در سلولهای جزایر پانکراسی صورت می‌گیرد (Hii & Howell, 1984). براساس گزارش Chakravarty و همکاران (۱۹۸۱) عصاره گیاه *Pterocarpus marsupium* (گیاهی درختی از خانواده Leguminosae که بیشتر در بخشهای مرکزی، غربی و جنوبی هند و سریلانکا می‌روید) اثر حفاظتی و ترمیمی بر بافت پانکراس رت‌های دیابتی شده با آلوکسان منوهیدرات دارد. ماده مؤثر این عصاره اپی‌کاتشین است و دارای اثر ترمیمی بر سلولهای بتا در مقابله با آسیب القاء شده توسط آلوکسان منوهیدرات می‌باشد که از بررسی نتایج بافت‌شناسی بدست آمده است. *Gymnema sylvester* (گیاهی درختی از خانواده Asclepiadaceae و بومی مناطق حاره ای هند) نیز از جمله گیاهان دارویی دیگری است که دارای اثر ضد دیابتی می‌باشد. عصاره برگ این گیاه در پانکراس رت‌های دیابتی، تعداد جزایر و همچنین تعداد سلولهای بتا را به میزان دو برابر افزایش می‌دهد. نتیجه تحقیق Jelodar و همکاران (۲۰۰۵) حاکی از این است که سیر اثر قابل توجهی در اثر بر سلولهای بتا و کاهش میزان قند خون دارد. این گیاه به میزان ۱۲/۵٪ وزن بدن رت به صورت معمولی به رژیم غذایی رت‌های دیابتی شده با آلوکسان منوهیدرات اضافه گردید. نتایج بررسیهای بافت‌شناسی نشان داد که مصرف این گیاه اثر معنی‌داری در افزایش تراکم حجمی جزایر پانکراسی، تراکم حجمی سلولهای بتا و نسبت تعداد سلولهای بتا به سلولهای آلفا دارد (Jelodar *et al*., 2005). در برخی از تحقیقات نیز اشاره شده که عصاره کنگرفرنگی بازسازی بافتی را تحریک می‌کند. این عصاره سبب افزایش مقدار RNA و تحریک تقسیم سلولی در سلولهای کبدی می‌گردد و به این صورت تعداد سلولهای کبدی را افزایش می‌دهد (Blumenthal, 1998؛ Jordan, 1999؛ Maros, 1966؛ Molien, 1998). تحقیقات نشان داده‌اند که در رت‌های دیابتی تیمار شده با آنتی‌اکسیدان تعداد سلولهای بتا به طور معنی‌دار افزایش می‌یابد (Kaneto *et al*., 1999). افزایش توده سلولهای بتا از طریق تکثیر سلولهای بتای تمایز یافته در جزایر، تمایز سلولهای بنیادی و یا سلولهای پیش‌ساز جزیره به سلولهای بتا و همچنین تمایز سلولهای مجرای پانکراسی به سلولهای بتا صورت می‌گیرد (Li *et al*., 2002؛ Waguri *et al*., 1997). همچنین، در پانکراس رت‌های دیابتی سلولهای پیش‌ساز داخل جزیره متمایز شده و جزایر جدید را ایجاد می‌نمایند (Banerjee & Bhonde, 2003).

در این تحقیق اثر عصاره کنگرفرنگی بر بازسازی جزایر پانکراسی در رت‌های دیابتی نشان داده شد، اما این موضوع که کدام ترکیب موجود در عصاره این اثر را دارد و در سطح سلول برای این عمل از چه مکانیسمی استفاده می‌کند روشن نیست. البته این مسئله می‌تواند در تحقیقات آینده مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی آسیب‌شناسی جزایر پانکراسی می‌توان چنین نتیجه گرفت که مکانیسم اصلی اثر کنگرفرنگی، بازسازی و ترمیم جزایر پانکراسی می‌باشد. چون تجزیه و تحلیل آماری نتایج

Archive of SID
www.SID.ir

بخش بافت‌شناسی به خوبی تأثیر قابل توجه عصاره‌ها را بر جزایر پانکراسی تأیید می‌نماید. به منظور کاملتر شدن اطلاعات در مورد اثر ضد دیابتی کنگرفرنگی پیشنهاد می‌شود که نخست ترکیب مؤثر عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی در کاهش قند خون، لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرمی در شرایط دیابت شناسایی و جداسازی گردد، دوم اینکه مکانیسم مولکولی اثر عصاره هیدروالکلی کنگرفرنگی در کاهش قند خون و همچنین اثر بر بافت پانکراس آسیب دیده در رت‌های دیابتی‌شده مورد بررسی قرار گیرد، سوم اینکه پژوهش راجع به تعیین نقش درمانی احتمالی کنگرفرنگی در بیماران مبتلا به بیماری دیابت قندی نوع اول انجام شود.

منابع مورد استفاده

– زرگری، ع.، ۱۳۷۰. گیاهان دارویی. جلد دوم. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۹۴۰ صفحه.

– شادان، ف.، ۱۳۷۸. فیزیولوژی پزشکی. جلد دوم. چهر، تهران، ۵۹۶ صفحه.

– ضیایی، س.ع.، دست‌پاک، آ.، نقدی‌آبادی، ح.، پورحسینی، ل.، همتی مقدم، ر. و غروی نائینی، م.، ۱۳۸۳. مروری بر گیاه کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.). فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۳: ۱۰-۱.

– مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۷۵۰ صفحه.

– ناظمیه، ح.، ۱۳۸۱ فارماکوپه گیاهی ایران. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ۸۶۰ صفحه.

- Arion, W.J., Canfield, WK., Ramos, F.C. and Schindler, P.W., 1997. Chlorogenic acid and hydroxyl nitrobenzaldehyde: new inhibitor of hepatic glucose 6-phosphatase. Archives of Biochemistry and Biophysics, 339(2): 315-322.
- Banerjee, M. and Bhonde, R.R., 2003. Islet generation from intra islet precursor cells of diabetic pancreas: in vitro studies depicting in vivo differentiation. Pancreas, 4(4): 137-145.
- Blumenthal, M., 1998. Benefits of artichoke extract on digestion, liver function and cholesterol levels. Natural Medicine, 1(7): 22-24.
- Borradaile, N.M., Dreu, L.E. and Huff, M.W., 2003. Inhibition of net hepG2 cell apolipoprotin B secretion by the citrus flavonoid narringenin involves activation of phosphatidylinositol 3-kinse, independent of insulin receptor substrate-1 phosphorylation. Diabetes, 52: 2554-2561.
- Cetto, A.A. and Wiedenfeld, H., 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocon diabetes rats. Ethnopharmacology, 78: 145-149.
- Chakravarthy, B.K., Gupta, S., Gambhir, S.S. and Gode, K.D., 1981. Pancreatic beta cell regeneration in rats by epicatechin. Lancet, 1: 759-760.
- Fritsche, J. and Beindorff, C.M., 2002. Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract compounds. European Food Research and Technology, 215: 149-157.
- Gebhardt, R., 1998. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts. Pharmacology and Experimental Therapeutics, 286(3): 1122-1128.
- Hii, C.S. and Howell, S.L., 1984. Effects of epicatechin on rat islets of langerhans. Diabetes, 33(3): 291-296.
- Jelodar, G.A., Maleki, M., Motadayen, M.H. and Sirus, S., 2005. Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. Medical Sciences, 59(2): 64-69.
-Jordan, K.G., 1999. Artichoke. Le Magazine, 1-7.
- Kaneto, H., Yoshitaka, K. and Miyagava, J.I., 1999. Beneficial effects of antioxidants in diabetes. possible protection of pancreatic cells against glucose toxicity. Diabetes, 48: 2398-2406.
- Kraft, K., 1997. Artichoke leaf extract recent finding reflecting effects on lipid metabolismliver and gastro intenstinal cracts. Phytomedicine, 4:369-378.
- Li, H., Xia, N., Brausch, I., Yao, Y. and Forstermann, U., 2004. Flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial-type nitric-oxide syntase gene expression in human endothelial cells. Pharmacology and Experimental Therapeutics, 310(3): 926-932.
- Li, M., Miyagawa, J., Yamamoto, K. and Moriwaki, M., 2002. Beta cells neogenesis from ducts and phenotypic conversion of residual islets cells in the adult pancreas of glucose intolerant mice induced by selective alloxan perfusion. Endocrinology, 49(5): 561-572.
- Lupattelli, G., Marchesi, S., Lombardini, R., Roscini, A.R., Trinca, F., Gemelli, F. and Elmo, M., 2004.

Archive of SID

www.SID.ir

Artichoke juice improves endothelial function in hyperlipemia. Life Science, 76(7): 775-782.
- Luzi, L. and Pozza, G., 1997. Glibenclamide: an old drug with a novel mechanism of action?. Diabetology, 34: 239-244.
- Maros, T., 1966. Effects of cyrana solymus extracts on the regeneration liver. Arzneimittelforschung, 16(2): 127-129.
- Molien, K., 1998. Benefits of artichoke leaf extract in hypercholestrolemia, dyspepsia, and liver function. Herbal Gram, 44: 21-22.
- Pal, S., Ho, N., Santo, S.C., Dubois, P., Mamo, J., Croft, K. and Allister, E., 2003. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of apo B_{100} from human hepG2 cells. Nutrition, 133(3): 100-106.
- Pittler, M.H., Thompson, C.J. and Ernst, E., 2002. Artichoke leaf extract for treating hypercholesterolemia. The Cochran Library, 1: 1-10.
- Rodriguez, T.S., Gimenez, D.G. and Vazquez, R.P., 2002. Choleretic activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. Phytomedicine, 9(8): 687-693.
- Sabu, M.C. and Kuttan, R., 2002. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidants property. Ethnopharmacology, 81(2): 155-160.
- Shimoda, H., Kiyofumi, N., Norihisa, N., Tomoe, Y., Toshio, M., Hisashi, M. and Masayuki, Y., 2003. Anti-hyperlipidemic sesquiterpenes and new sesquiterpene glycosides from the leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.): structure requirement and mode of action. Bio organic & Medicinal Chemistry Letters, 13: 223-228.
- Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, p., Guizzardi, S., Renzulli, C. and Guerra, M.C., 2003. Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints. Ethnopharmacology, 86(2-3): 203-211.
- Waguri, M., Yamamoto, K. and Miyagawa, J.J., 1997. Demonstration of two different process of beta cell regeneration in a new diabetic mouse model induced by selective perpusion of alloxan.Diabetes, 46:1281-1290.
- Zhu, X., Zhang, H. and Lo, R., 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. Agricultural and food chemistry, 52(24): 7272-7278.

Archive of SID

www.SID.ir

Hypoglycemic and hypolipidemic effect of hydroalcoholic *Cynara scolymus* L. extract in alloxan monohydrate-induced diabetic rats to compare with glibenclamide

N. Ahmadi Mahmoodabadi[*1], H. Madani[1] and P. Mahzooni[2]

1- Department of Biology, Isfahan University, Iran.
2- Department of Pathology, Medical Science, Isfahan University, Iran.
[*]Corresponding Author, E-mail: nargol_ahmadi2001@yahoo.com

Recieved: Septamber 2007 Revised: April 2008 Accepted: April 2008

Abstract

Artichoke with the scientific name of *Cynara scolymus is* a plant from Compositeae family. In this research, the effect of hydroalcoholic extract of artichoke on the changes of serum glucose, lipids and lipoproteins in alloxan monohydrate-induced diabetic rats was investigated. Also, the effect of extract on damaged pancreatic tissue was investigated and was compared with glybenclamide as a chemical drug. Twenty adult male rats, weighing 200-250 gr, were used in four groups of five each (control, diabetic, diabetic+glibenclamide, diabetic + artichoke extract). The first group (control), received serum physiology equal to injecting material volume. Second group (diabetic), received 120 mg/kgbw alloxan monohydrate. Third group (diabetic + glibenclamide) received 0/5 mg/kg bw glibenclamide in addition to the similar treatment with second group. Fourth group (diabetic + *Cynara scolymus*) at first, became diabetic by alloxan monohydrate injection, then they received 300 mg/kgbw hydroalcoholic plant extract. Prescribing materials in all groups was done as interaperitoneal injection (IP). The results from statistical analysis show that *Cynara scolymus* extract reduce significantly the rate of glucose, cholesterol, triglyceride, VLDL and LDL than diabetic group (P< ٠/05). Also, artichoke which decreased rate of glucose was similar to glybenclamide group, but comparing to control group, it has significant difference. The effect of this plant on other investigating factors was similar to glybenclamid and control groups (P> ٠/05). The results of Histologic studies confirmed this part of research. On the base of histologic results, extract have a significant effect on increasing the size of pancreatic islets, number of islet cells and cell proliferation than diabetic group. This research suggested that hydroalcoholic extract of *Cynara scolymus* has a significant effect on decreasing the blood sugar, serum lipids and lipoproteins than diabetic rats. Also the effect of extract in repairing damaged pancreatic tissue was confirmed.

Key words: Diabetes Mellitus, *Cynara scolymus* L., Alloxan monohydrate, Glibenclamide.

Archive of SID

www.SID.ir