Archive of SID

اثر هیپولیپیدمیک و آنتی اکسیدانی دانه گیاه *Securigera securidaca L.* در موش های صحرایی تحت رژیم غذایی پر چرب

فاطمه فتحی آزاد[۱]، نگار علاف اکبری[۱]، آرزو زاخری[۱] ،سینا عندلیب[۱]، نسرین مالکی دیزجی[۱]، افسانه قره باقری[۲]، امیرقربانی حق جو[۲]، اشرف فخرجو[۳]، علیرضا گرجانی[۴]*

[۱]دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، تبریز، ایران، [۲] مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، [۳]دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ، تبریز، ایران، [۴]مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱۸ ، تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۱۵

Hypolipidemic and antioxidant effects of Securigera securidaca L. seed in high fat fed rats

Fathi Azad F.[1]، Allaf Akbari N.[1]، Zakheri A.[1]، Andalib S.[1]، Maleki Dizaji N.[1]، Ghareh Bagheri A.[2]، Ghorbani Haghjo A.[2]، Fakhrjo A.[3]، Garjani A.[4]*

[1]School of Pharmacy، Tabriz University of Medical Sciences، Tabriz، Iran، [2]Drug Applied Research Center، Tabriz University of Medical Sciences، Tabriz، Iran، [3]School of Medicine، Tabriz University of Medical Sciences، Tabriz، Iran، [4]Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology، Tabriz University of Medical Sciences، Tabriz، Iran.

Received: 9 Oct. 2008, Accepted: 5 May 2009

Objectives: Hypercholesterolemia is the main risk factors for atherosclerosis and atherosclerosis is the major cause of heart diseases and stroke. In the present study، we investigated the effect of total extract of Securigera securidaca L. seeds on the serum lipid profile and oxidative stresses caused by hypercholesterolemia. **Method:** Male Wistar rats randomly divided into 6 groups of 6 animals in each. The rats in normal control group were fed a standard laboratory diet and the other groups were fed a high fat diet for 36 days. Oral treatment with the extract started at day of 16 and continued for last 20 days of the experiment period. At the end of the experiment، portal vein blood and liver were collected to measure the lipid levels and other biochemical factors. **Results:** The results of this study indicated that short-term treatment by hydroalcoholic extract of S. securidaca L. seeds، produced a significant reduction ($p<0.05$) in the level of triglyceride، as well as LDL. Compared to acid ascorbic the extract had a weak antioxidant activity in vitro with no effect on total serum anti-oxidant and serum paraoxonase activity. However، the present results showed that high-fat diet induced elevation of malondialdehyde (MDA) level، both in serum and liver، was suppressed markedly by the extract ($p<0.001$). **Conclusion:** The results of this study indicated that the extract of S. securidaca's seeds in addition to having considerable hypolipidemic effects in high fat fed rats، was able to decrease lipid peroxidation independent of antioxidant activity.

Key words: *Securigera.securidaca، Hyperlipidemia، lipid peroxidation، antioxidant*

زمینه و هدف: مقادیر بالای کلسترول سرم و غیر نرمال بودن سطح سرمی سایر لیپیدها، از ریسک فاکتورهای عمده آترواسکلروز و بیماریهای قلبی و عروقی است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* بر روی لیپید پروفایل و استرس اکسیداتیو ناشی از هیپرکلسترولمی است. روشها: موشهای صحرایی ویستار نر به صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. یک گروه تحت رژیم غذای معمولی و سایر گروهها به منظور ایجاد وضعیت هیپرلیپیدمیک، به مدت ۳۶ روز تحت تغذیه با رژیم غذایی پر چرب قرار گرفتند. ۱۶ روز بعد از رژیم غذایی پرچرب گروهها ی درمان؛ عصاره تام دانه گیاه و یا لووستاتین را با دوزهای مختلف به مدت ۲۰ روزبه صورت خوراکی دریافت نمودند. پس از طی این مدت؛ سرم و پلاسما جهت اندازه گیری لیپیدها و انجام سایر آزمایشات بیوشیمیایی جدا شد. جهت بررسی استرس اکسیداتیو کبد حیوانات نیز جدا شده و سیتوزول آن ها تهیه گردید. یافته ها: نتایج نشان داد که درمان کوتاه مدت با عصاره هیدروالکلی دانه گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* بطور موثری سطح تری گلیسرید خون و LDL را بطور معنی داری کاهش داد ($p<0.05$) . عصاره درمقایسه با اسید اسکوربیک بصورت in vitro اثر انتی اکسیدانی ضعیفی داشت و ضمنا فاقد اثر برروی فعالیت پارکسوناز و فعالیت آنتی اکسیدانی تام سرمی بود. درحالیکه درمان با عصاره دانه گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* توانست غلظت مالون دی آلدهید سرمی و بافتی را بصورت بسیار معنی داری کاهش دهد. نتیجه گیری: عصاره هیدروالکلی دانه گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* در حیوانات تحت رژیم غذایی پرچرب اثر هیپولیپیدمیک قابل توجهی داشت. علاوه بر این عصاره دانه گیاه پراکسیداسیون لیپیدی سرم و کبد حیوانات پرچرب را بطور سودمندی کاهش داد. اثر مهار پراکسیداسیون لیپیدی عصاره مستقل از اثر آنتی اکسیدانی است.

کلمات کلیدی: ، سکوریژرا سکوریداکا ، هیپرلیپیدمی؛ پراکسیداسیون لیپید؛ آنتی اکسیدان .

*نویسنده مسئول: **علیرضا گرجانی**، استاد، مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. تلفن: ۳۳۴۱۳۱۵-۰۴۱۱ ، نمابر: ۳۳۴۴۷۹۸-۰۴۱۱

**Corresponding Author: Alireza Garjani، professor، Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology، Tabriz University of Medical Sciences، Tabriz، Iran. Tel: +98-411-3341315; Fax: +98-411-3344798; E-mail: garjania@tbzmed.ac.ir*

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

امروزه بیماری ایسکمیک قلبی (IHD)، شایعترین، جدی ترین، و کشنده ترین بیماری در کشورهای توسعه یافته و یا در حال توسعه می باشد و عواملی چون رژیم غذایی دارای چربی، مصرف سیگار، الگوی زندگی کم تحرک، چاقی، مقاومت به انسولین و دیابت، از عوامل خطر ساز در این زمینه می باشند (۱) . در این بیماری مقادیر نامناسب چربی های در گردش خون، از ریسک فاکتورهای عمده آترواسکلروز است و تلاشهای زیادی برای درمان آن صورت می گیرد. امروزه توجه خاصی نسبت به استفاده از ترکیبات طبیعی و بالاخص ترکیبات گیاهی در درمان بیماریها میشود. مطالعات در مورد اثرات عصاره گیاهان برروی حیوانات نتایج مثبتی در مورد کاهش چربی خون نشان داده است. حضور مواد موثری چون فلاوونوئید ها، پلی فنل ها؛ انتروکینونها، استرول ها، و تانن ها در عصاره های مطالعه شده تاثیر این عصاره ها را در کاهش میزان کلسترول خون و همچنین حذف رادیکالهای آزاد توجیح مینماید (۲). دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* از خانواده لگومینوز در طب سنتی ایران به عنوان پایین آورنده فشار خون و در آذربایجان به عنوان پایین آورنده قند و چربی مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه در فارسی تخم شیرازی و گنده تلخه نامیده می شود و معمولا در استانهای تهران، خوزستان، شمال و شمال شرقی می روید (۳). *گیاه سکوریژرا سکوریداکا*، گیاهی علفی، یکساله و به ارتفاع ۴۰ -۱۰ سانتی متر میباشد که بیشتر در کنار باغها و جویهای آب رشد می کند (۴). از مشخصات ساقه این گیاه این است که منفرد بوده و یا در پایین کمی منشعب است، گل های نر و ماده نسبتاً بزرگ و زرد رنگ می باشند. این گیاه دارای میوه ای به رنگ قهوه ای کم رنگ است و زمان گل دادن آن اردیبهشت ماه است (۵). دانه های این گیاه از دیر باز به عنوان درمان برای دیابت ملیتوس کاربرد داشته است(۶). به عصاره های بدست آمده از دانه های این گیاه اثرات متعددی از قبیل اثرات ضد تشنج ، کرونوتروپیک و دیورتیک نسبت داده می شود (۷). مهم ترین ترکیباتی که در دانه گیاه گزارش شده اند شامل ترکیباتی از گروه ساپونین های تری ترپنی، کاردنولیدها، فلاونوئیدها، کومارین ها و استرول ها می باشند. مهم ترین کاردنولید Securidaside گزارش شده است که بیوزید Securigenin می باشد. از دیگر ترکیبات این دسته به حضور securin و coronillin نیز اشاره شده است. در عصاره حاصل از گل های گیاه فلاونوئیدهای کامفرول و astragalin گزارش شده است (۸). کومارین های موجود در اندام های هوایی این گیاه نیز هیدروکسی کومارین هایی از نوع scopoletin و umbelliferone شناخته شده اند (۹). در مطالعه ی حاضر اثر ضدچربی و آنتی اکسیدانی عصاره تام گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* و تاثیر آن بر روی استرس های اکسیداتیو در رت های سالم و هیپرلیپیدمیک از نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفته است .

۲- مواد و روش ها

۲-۱: تهیه عصاره تام

در این مطالعه دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* با دستگاه خردکن بصورت پودر ریزی در آورده شد. پودر حاصل توسط متانول ۷۰ ٪، به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه و دور از نور ماسره گردید. محلول متانولی حاصل صاف شده، عصاره های هیدروالکلی حاصل برروی هم جمع آوری و متانول آن توسط روتاری اواپوراتور در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و تحت خلا خارج گردید. این بچ از عصاره در دمای ۲-۴ درجه سانتیگراد نگهداری و در کلیه مراحل آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲: مواد

پودر لواستاتین اهدایی کارخانه سبحان بود. پودر غذای حیوانات از کارخانه ی نیرو سهند تبریز تهیه گردید. کلسترول ؛ کولیک اسید بصورت ملح سدیم (C24H39NaO5) و ساکارز ساخت کارخانه مرک آلمان مورد استفاده قرار گرفت. کتامین؛ آسپرومازین و زایلازین از شرکت Alfasan هلند تهیه گردید.

۲-۳: پرتکل مطالعه

در این مطالعه از رتهای نر گونه ی ویستار با محدوده ی وزنی ۱۹۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. رت ها از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. در حیوان خانه دانشکده داروسازی تبریز در شرایط استاندارد درجه حرارت ۰/۵°C ۲۲± و رطوبت ۷۰٪ و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی به صورت زیر تقسیم شدند :

گروه دریافت کننده غذای معمولی (Control Normal: CN)؛ گروه دریافت کننده رژیم پر کلسترول (High Fat; HF)؛ گروه دریافت کننده رژیم پر کلسترول و لوواستاتین (HF+L)؛ گروه دریافت کننده رژیم پر کلسترول و عصاره گیاه به مقدار ۵۰ mg/kg (HF+Ss50)؛ گروه دریافت کننده رژیم پر کلسترول و عصاره گیاه به مقدار ۱۰۰ mg/kg (HF+Ss100)؛ گروه دریافت کننده رژیم پر کلسترول و عصاره گیاه به مقدار ۲۰۰ mg/kg (HF+Ss200). این گروه ها به مدت ۳۶ روز تحت رژیم غذای معمولی در گروه CN و رژیم غذای پرچرب در سایر گروه ها قرار گرفتند (۱۰). وزن غذای مصرفی و حجم آب مصرفی به صورت روزانه و تغییرات وزن آنها به صورت هفتگی اندازه گیری شد و در بیست روز آخر حیوانات گروه درمان سوسپانسیون عصاره و یا لواستاتین را در کربوکسی متیل سلولز(CMC) ۰/۵٪ به صورت خوراکی و حیوانات گروه کنترل هم حجم گروه درمان CMC ۰/۵٪ روزانه دریافت نمودند.

۲-۴: رژیم غذایی پر چرب جهت ایجاد هایپر کلسترولمی در موش های صحرایی

www.SID.ir

Archive of SID

غذای معمولی و پرچرب مورد استفاده جهت تغذیه حیوانات آزمایشگاهی، روزانه در آزمایشگاه تهیه گردید. غذای پرچرب حاوی مواد زیر بود:

پودر غذای معمولی موش های صحرایی (۶۲/۷۵٪)؛ کلسترول (۲٪)؛ کولیک اسید بصورت ملح سدیم (۰/۲۵٪)؛ Lard oil (۱۵٪)؛ آرد سفید گندم (۱۰٪) و ساکارز (۱۰٪).

۲-۵: اندازه گیری چربی های سرم خون

در پایان آزمایشات نمونه خونی هر حیوان پس از بی هوشی (با تزریق صفاقی مخلوط کتامین، زایلازین، آسپرومازین) از طریق ورید پورتال قبل از جداسازی شریان آئورت، جمع آوری شده و پس از سانتریفوژ با دور rpm ۲۲۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، سطح کلسترول تام و تری گلیسرید سرمی با استفاده از روش آنزیمی استاندارد اندازه گیری شد. به دنبال آن سطح سرمی LDL و HDL با استفاده از روش هپارین-نیکل و روش هپارین- اسید سیتریک طبق دستورالعمل کارخانه سازنده کیت تعیین مقدار شد (۱۱).

۲-۶: تست آنتی اکسیدان عصاره بصورت in vitro

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ی هیدروالکلی با استفاده از ماده ۲و۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیلDPPH () انجام شد. این ماده در حضور ماده آنتی اکسیدان احیا شده و بسته به میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ماده مورد آزمایش، از شدت رنگ آن کاسته می شود. این تغییر رنگ در واقع اساس اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی است (۱۲). ابتدا محلول mg/ml ۱ از عصاره در متانول و سپس رقتهای متوالی از آن تهیه گردید. بر روی ۱ میلی لیتر از محلول های نمونه، ۱ میلی لیتر محلول DPPH با غلظت mg/ml ۰/۰۸ افزوده و پس از انکوباسیون در تاریکی و دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه جذب این محلول ها در طول موج nm ۵۱۷ اندازه گیری شد. در این آزمایش از اسید آسکوربیک به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. این آزمایش دو بار تکرار شد و میانگین جذب برای هر غلظت اندازه گیری گردید. غلظتی از عصاره که باعث احیا ۵۰٪ از DPPH موجود می شود محاسبه گردید و نتایج به صورت RC_{50} بیان شد (۱۲).

۲-۷ : تعیین پراکسیداسیون لیپیدی سرم و کبد

اساس روش اندازه گیری مالون دی آلدهید (malonedialdehyde:MDA) سرمی و بافتی بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA) و استخراج با بوتانول نرمال است. آزمایش بدین ترتیب انجام شد که ابتدا ۲۵۰ میکرولیتر از سرم تهیه شده در یک لوله آزمایش شیشه ای با ۳cc اسید فسفریک ۱٪ و سپس با ۱cc تیوباربیتوریک اسید ۰/۶۷٪ مخلوط گردید و پس از مخلوط شدن به مدت ۴۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت. پس از اطمینان از سرد شدن مخلوط مورد نظر، ۱/۵cc بوتانول نرمال به این مخلوط اضافه گشته و پس از سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰rpm جذب نوری مایع رویی در طول موج ۵۳۲nm ثبت گردید (۱۳). جهت تهیه سیتوزول، بافت مورد نظر با بافر فسفات حاوی سالین نرمال شستشو داده شد و پس از اضافه کردن ۱۰cc از بافر سرد به ازای هر گرم از بافت و هموژنیزه کردن آن به وسیله دستگاه هموژنایزر، در g ۱۰۰۰۰ و در دمای ۴°C سانتریفوژ گردید. برای تعیین پراکسیداسیون لیپیدی کبد، cc ۰/۵ از محلول رویی بدست آمده از بافت هموژن مورد استفاده قرار گرفت و تمامی مراحل آزمایش مشابه قبل انجام شد (۱۳). این جذب با منحنی استاندارد مقایسه گردید و غلظت مالون دی آلدهید با استفاده از منحنی به دست آمد.

۲-۸: اندازه گیری فعالیت پاراکسوناز سرم

در این آزمایش از فنیل استات به عنوان سوبسترا استفاده گردید و فعالیت آریل استرازی که معادل فعالیت پاراکسوناز است اندازه گیری شد (۱۳). غلظت تمامی مواد مورد استفاده در محلول نهایی mM ۲ و حجم محلول نهایی در حدود cc ۳ بود. مخلوطی از فنیل استات (۱cc) و $CaCl_2$ (۰/۵cc) در ۱/۵cc بافر تریس هیدروکلراید با pH=۸ تهیه گردید. در مرحله آخر به مخلوط فوق ۱۰ میکرولیتر سرم اضافه شد و جذب نوری آن در ثانیه ۶۰ام و ۱۲۰ام توسط دستگاه اسپکتو فوتومتر و در طول موج ۲۷۰nm ثبت گردید. از مخلوط بدون سرم به عنوان بلانک استفاده شد (۱۴).

۲-۹: اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی تام سرم

جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی تام سرمی از کیت اندازه گیری شرکت راندوکس استفاده شد و توسط دستگاه اتوآنالیزور طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گردید.

۲-۱۰: تهیه مقاطع بافتی از کبد

قسمتی از بافت کبد بعد از جداسازی و شستشو با سالین به سرعت خشک و در فرمالین ۱۰٪ به مدت ۴۸ تثبیت گردید. سپس نمونه ها با استفاده از الکل و گزیلول فیکس و قالب گیری شد. پس از آماده سازی به روش هماتوکسیلن و ائوزین رنگ آمیزی گردید (۱۱). لام های بدست آمده با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ×۴۰۰ مورد مطالعه قرار گرفت. تصاویر بافتی با استفاده از دوربین دیجیتالی تهیه شده است.

۲-۱۱: روش های آماری

نتایج حاصل از این بررسی بصورت mean±SEM بیان شده و با استفاده از تست آماری ANOVA یک طرفه و پس آزمون Newman students keuls test آنالیز و ($p<۰/۰۵$) معنی دار در نظر گرفته شد. n=۶ در هر مورد تعداد حیوانات مورد آزمایش را نشان می دهد.

۳- نتایج

۳-۱: فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره تام به صورت in vitro

www.SID.ir

Archive of SID

در تست فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از DPPH، عصاره در مقایسه با کنترل مثبت (آسکوربیک اسید)، فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیفی را از خود نشان داد. میزان RC_{50} عصاره و آسکوربیک اسید به ترتیب ۰/۰۲۱ mg/ml و ۰/۰۰۴۳ mg/ml محاسبه شد. نسبت RC_{50} عصاره گیاه به RC_{50} اسید اسکوربیک نیز ۴/۸۸ بود.

۲-۳: اثر عصاره دانه گیاه سکوریژرا سکوریداکا بر روی سطح چربی های خون

رژیم غذایی پرچرب مورد استفاده در این مطالعه بطور بسیار معنی داری توانست کلسترل تام ($p<0.001$) و LDL ($p<0.001$) را افزایش دهد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه دریافت عصاره در هر سه دوز مورد استفاده توانسته کاهش معنی داری در میزان تری گلیسرید در مقایسه با گروه بیمار ایجاد کند؛ علاوه بر این دوز های ۱۰۰mg/kg و ۲۰۰mg/kg LDL سرمی را بصورت معنی داری کاهش داده اند ($p<0.05$). لووستاتین هم بعنوان کنترل مثبت باعث کاهش سطح سرمی LDL و کلسترول تام در حیوانات هیپرکلسترولمیک شده است ولی این کاهش معنی دار نبوده و به شدت کاهش حاصل از عصاره نیست. عصاره و لووستاتین تاثیری بر سطح سرمی HDL نداشتند (شکل ۱).

۳-۳: اثر عصاره دانه گیاه سکوریژرا سکوریداکا بر روی پراکسیداسیون لیپیدی سرم و کبد

رژیم غذایی پرچرب مورد استفاده در این مطالعه توانسته است بطور معنی داری ($p<0.001$) غلظت MDA سرمی و بافتی را افزایش دهد. دریافت لووستاتین و عصاره با هر سه دوز توانسته است هم غلظت MDA سرمی و هم غلظت MDA بافتی را به خوبی و بطور معنی داری ($p<0.01$; $p<0.001$) در مقایسه با گروه هیپرکلسترولمیک کاهش دهد (شکل ۲). این در حالی است با افزایش دوز عصاره به ۲۰۰mg/kg کمی برگشت اثر مشاهده میشود (شکل ۲).

۴-۳: اثر عصاره دانه گیاه سکوریژرا سکوریداکا بر فعالیت پاراکسوناز سرم

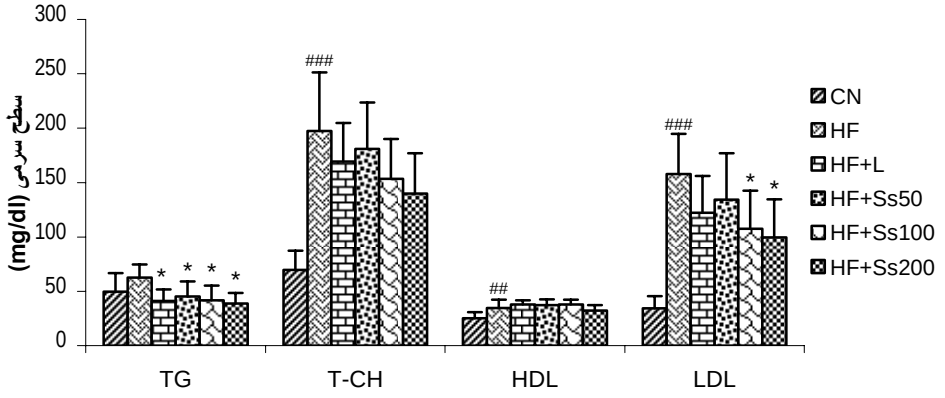
رژیم غذایی پرچرب توانسته است میزان فعالیت پاراکسونازسرمی را کاهش دهد اما این میزان کاهش در هیچکدام از گروهای درمان با عصاره و لووستاتین معنی دار نیست. دریافت عصاره با دوز ۵۰mg/kg علیرغم کاهش جزئی تفاوت معنی داری در میزان فعالیت پاراکسوناز سرمی ایجاد نکرده است. دوزهای ۱۰۰mg/kg و ۲۰۰mg/kg عصاره میزان فعالیت پاراکسوناز سرم را بصورت جزئی و غیر معنی دار افزایش دادند (شکل ۳).

۵-۳: اثر عصاره دانه گیاه سکوریژرا سکوریداکا بر فعالیت آنتی اکسیدانی تام سرم

همانطوریکه در شکل ۴ مشاهده میشود سطح سرمی آنتی اکسیدان تام سرمی در گروه های مختلف درمان و کنترل تفاوت معنی داری با همدیگر ندارند. دوز ۱۰۰mg/kg عصاره کمی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی سرمی را افزایش داده است که این میزان افزایش از نظر آماری معنی دار نیست (شکل ۴).

۶-۳: نتایج بررسی هیستولوژیکی

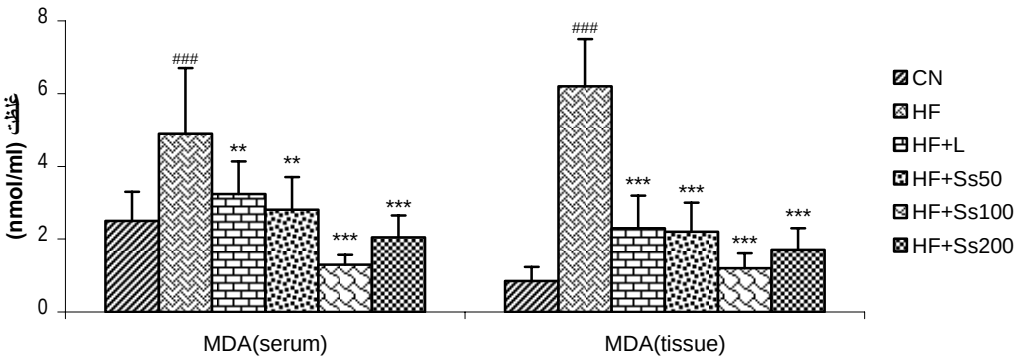
همانطوریکه در مقاطع بافتی کبد که با روش هماتوکسیلن و ائوزین رنگ آمیزی شده اند دیده میشود (شکل ۵) در گروه کنترل سالم تجمع چربی در هپاتوسیت ها مشاهده نمیشود و هسته سلول ها کاملا مشخص است (شکل ۵A). برعکس در کبد حیوانات تحت رژیم پرچرب تجمع چربی بصورت استئاتوزیس میکروووزیکولار به فراوانی دیده میشود (شکل ۵B). درمان با لووستاتین تا حدودی این تجمع را کاهش داده است ولی همچنان استئاتوزیس حتی بصورت ماکروووزیکولار نیز دیده میشود (شکل ۵C). درمان با عصاره با هر سه دوز در مقایسه با گروه پرکلسترول تجمع چربی را بخوبی کاهش داده است (شکل ۵F،E،D).



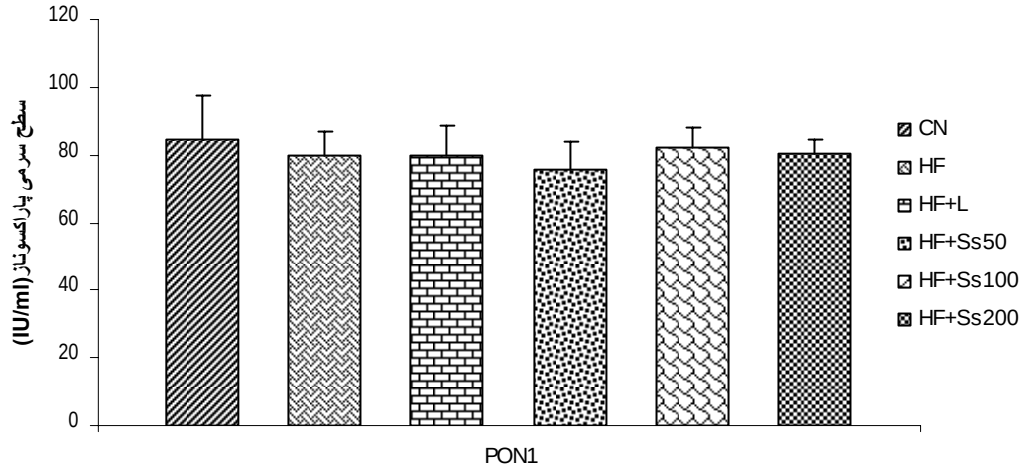
شکل ۱. تاثیر عصاره دانه گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* بر سطح لیپیدهای سرم خون در گروههای مختلف تحت مطالعه. داده ها بصورت mean±SEM برای ۶ رت در هر گروه نشان داده شده است. $p < 0.01$ ## و $p < 0.001$ ### در مقایسه با گروه کنترل سالم و $p<0.05$* در مقایسه با گروه پرچرب. CN=control normal rats; HF=high fat rats; L=lovastatin; Ss= Securigera securidaca extract; TG=triglycerides; T-CH=total cholesterol; HDL=high density cholesterol; LDL=low density cholesterol

www.SID.ir

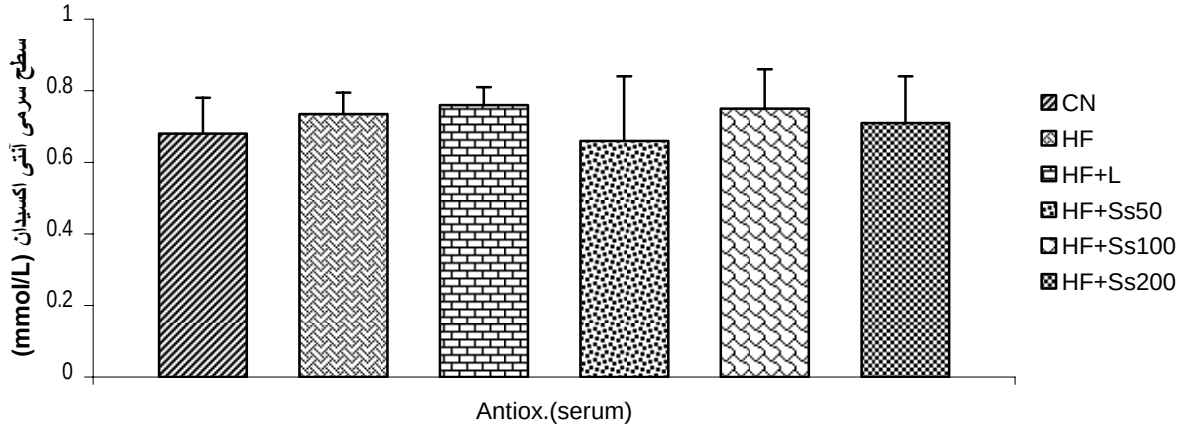
Archive of SID



شکل ۲. تاثیر عصاره دانه گیاه سکوریژرا سکوریداکا بر پراکسیداسیون لیپید سرم و کبد در گروههای مختلف تحت مطالعه. داده ها بصورت mean ± SEM برای ۶ رت نشان داده شده است. ### $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم و $p<0.01$** ؛ $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه پرچرب. CN=control normal rats; MDA=malonedialdehyde; HF=high fat rats; L=lovastatin; Ss= Securigera securidaca extract; TG=triglycerides; T-CH=total cholesterol; HDL=high-density cholesterol; LDL=low-density cholesterol



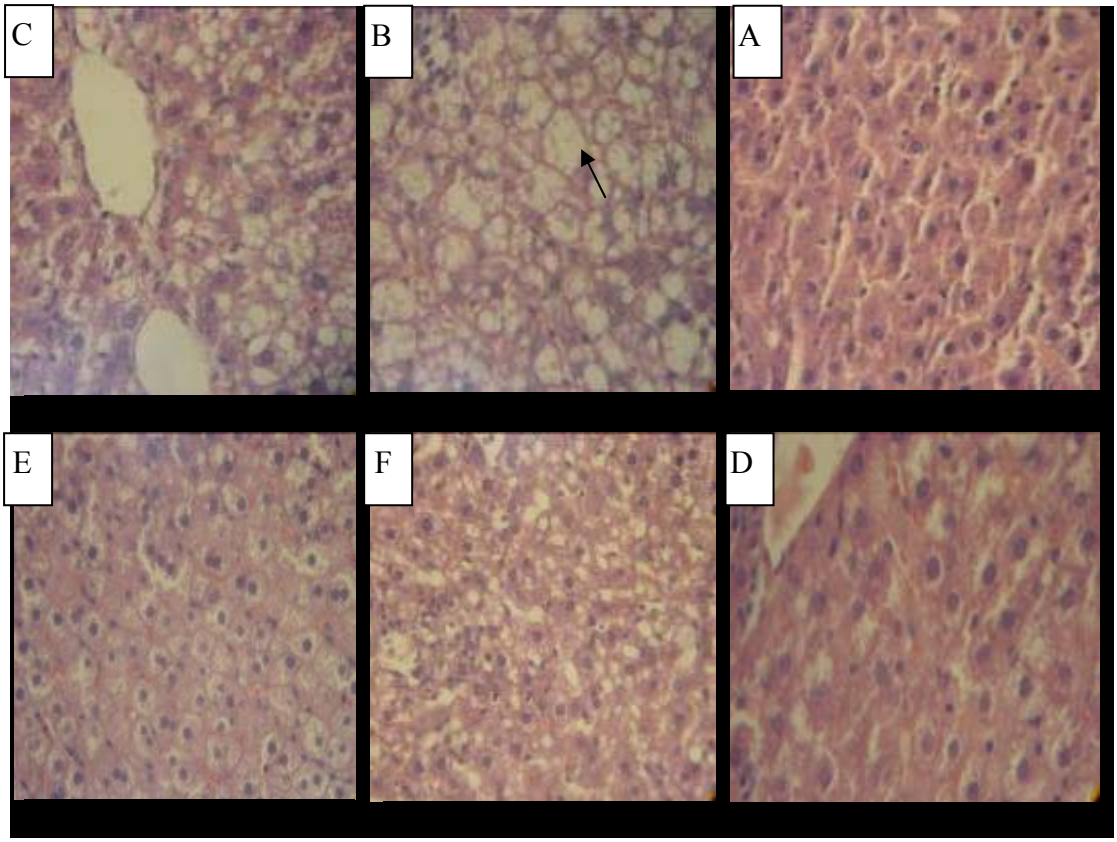
شکل ۳. تاثیر عصاره دانه گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* بر فعالیت پاراکسوناز سرم در گروههای مختلف تحت مطالعه. داده ها بصورت mean ± SEM برای ۶ رت نشان داده شده است. PON1=paraoxonase 1; CN=control normal rats; MDA= malonedialdehyde; HF=high fat rats; L=lovastatin; Ss= Securigera securidaca extract; TG=triglycerides; T-CH=total cholesterol; HDL=high density cholesterol; LDL=low density cholesterol



شکل ۴. تاثیر عصاره گیاه سکوریژرا سکوریداکا بر فعالیت آنتی اکسیدانی تام سرم در گروههای در مختلف تحت مطالعه. داده ها بصورت mean ± SEM برای ۶ رت نشان داده شده است. CN=control normal rats; MDA=malonedialdehyde; HF=high fat rats; L=lovastatin; Ss= Securigera securidaca extract; TG=triglycerides; T-CH=total cholesterol; HDL=high density cholesterol; LDL=low density cholesterol

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۵ . فتومیکروگراف مقطعی ازکبد در گروه های سالم (A)؛ گروه پر چرب (B)؛ گروه درمان با لوواستاتین (C) و گروه های درمان با عصاره با دوزهای ۵۰ (D)؛ ۱۰۰ (E)؛ ۲۰۰ (F) میلی گرم بر کیلوگرم رت. تجمع چربی با علامت فلش نشان داده شده است.بزرگنمایی ۴۰۰ و رنگ آمیزی H&E.

۴-بحث

در این مطالعه عصاره هیدرو الکلی دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* که در طب سنتی ایران بعنوان کاهنده چربی خون مطرح است از نظر اثرات کاهندگی چربی خون و نیز اثرات احتمالی آنتی اکسیدانی در موش های صحرایی هیپرکلسترولمیک مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه افزودن کلسترول خالص به میزان ۲ درصد و روغن خوک به مقدار ۱۵ درصد به غذای معمولی حیوانات در مدت زمان ۳۶ روز توانست هیپرکلسترولمی بسیار خوبی را ایجاد کند. بطوریکه با این رژیم غذایی میزان کلسترول تام سرمی ۱۸۵٪؛ LDL ۳۶۴٪؛ و تری گلیسرید ۲۶٪ افزایش یافت. بنابراین این رژیم میتواند بعنوان یک مدل غذایی به خوبی برای مطالعات هیپرکلسترولمیک در موش های صحرایی مورد استفاده قرار گیرد. این مطالعه نشان میدهد که مصرف خوراکی عصاره در کوتاه مدت (۲۰ روز) توانسته است میزان کلسترول تام خون را کاهش دهد که این کاهش عمدتا بصورت کاهش (۳۷٪؛ $P<0.05$) در فرم پاتوژنیک آن یعنی LDL است. در صورتیکه لووستاتین بعنوان یک داروی ضد چرب شناخته شده نتوانسته است به این میزان ایجاد اثر کند. همچنین عصاره گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* منجر به کاهش قابل توجه تری گلیسرید سرم نیز شده است. این اثرات مفید گیاه در کاهش چربی های

www.SID.ir

Archive of SID

مضر سرم در حیوانات هیپرکلسترولمیک (شکل ۱) همراه با کاهش بسیار مشخص تجمع چربی در هپاتوسیت ها (شکل ۵) است. یکی از ترکیبات اصلی دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* فلاونوئیدها (۸) است. مطالعات نشان داده است که فلاونوئیدهای حاصل از منابع گوناگون گیاهی، با افزایش گیرنده های LDL در سطح سلولهای کبدی و اتصال آن به آپولیپوپروتئین B ، باعث افزایش برداشت LDL از خون و کاهش لیپیدهای پلاسما شده و به این ترتیب می توانند در جلوگیری و درمان آترواسکلروزیس موثر واقع شوند (۱۵و۱۶). همچنین فیبرها و ساپونین های موجود دردانه های این گیاه میتواند جذب خوراکی چربی ها را (۱۸؛۱۷) به خوبی کاهش دهد؛ چه اینکه اثر عصاره در کاهش بسیار خوب در سطح سرمی تری گلیسریدها شاید به خاطر آن باشد. میتوان استدلال کرد که این گیاه اثر ضد چربی خود را عمدتا مدیون ترکیبات فلاونوئیدی است. مطالعات نشان می دهد که فلاوونوئیدها بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی تاثیر دارد و بصورت in vivo می تواند اکسیداسیون DNA ،پروتئین ها؛ و لیپیدها را کاهش دهد و نقش مهمی در کاهش خطر بیماری عروق کرونر ایفا می کند (۱۹). فلاوونوئیدها به عنوان آنتی اکسیدان عمل کرده و قبل از دستیابی رادیکـــال های آزاد به سلولهای هدف آنها را بـــــــــه دام می اندازند (۲۰،۲۱،۲۲). مطالعه ما نشان میدهد که عصاره تام گیاه هرجند که توانسته است افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را که بصورت تولید مالون دی آلدهید در سرم و کبد اندازه گیری شده است به خوبی و بطور بسیار معنی دار مهار نماید ولی بصورت in vitro در تست DPPH اثر آنتی اکسیدانی قابل ذکری از خود نشان نداده است. از طرفی همانطوریکه در شکل های ۳ و ۴ مشاهده میشود عصاره گیاه در این مطالعه تاثیری معنی دار بر روی سطح سرمی آنزیم پارکسوناز و فعالیت تام آنتی اکسیدان سرمی نداشته است. آنزیم پاراکسوناز در کبد سنتز میشود و همراه با HDL در خون حمل میشود. این آنزیم با کاهش اکسیداسیون LDL خطر بیماریهای عروق کرونر را کاهش می دهد (۲۳). در این مطالعه عصاره دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* تاثیر معنی داری بر روی سطح سرمی HDL نداشته است. لذا عدم تغییر غلظت آنزیم پاراکسوناز در گروه های درمانی مختلف خارج از انتظار نیست. مالون دی آلدهید در محیط های بیولوژیک بعنوان یک مارکر استرس اکسیداتیو شناخته میشود که معمولا از دگراداسیون اکسیداتیو لیپیدها حاصل میشود. کاهش MDA توسط عوامل ضد چربی هم میتواند ناشی از مهار واکنش های اکسیداتیو باشد و هم میتواند بصورت ثانوی ناشی از کاهش لیپیدها باشد. تعداد زیادی از مطالعات وجود دارد که نظیر مطالعه ما نشان میدهد عوامل گیاهی مخصوصا عوامل حاوی فلاونوئیدها بدون تاثیر بر فعالیت آنتی اکسیدانی سرم یا بافت کبدی؛ سطوح سرمی و بافتی MDA را بخوبی کاهش داده اند (۲۴؛ ۲۵؛ ۲۶). به عبارتی کاهش پراکسیداسیون لیپیدی حاصل از تجویز عصاره دانه گیاه در حیوانات هیپرکلسترولمیک ارتباطی با فعالیت آنتی اکسیدانی نداشته و احتمالا ناشی از تاثیر مستقیم عصاره بر روی سطح سرمی چربیها بوده است.

۵-نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که مصرف خوراکی عصاره دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* در کاهش سطح سرمی تری گلیسرید و LDL-CH تاثیر قابل توجهی دارد. همچنین عصاره دانه گیاه سرمی و کبدی مالون دی آلدهید را در حیوانات هیپرکلسترولمیک بطور سودمندی کاهش داده است. با توجه به عدم تاثیر عصاره بر روی فعالیت اکسیدانی بصورت in vitro و in vivo در این مطالعه به نظر میرسد که فعالیت آنتی اکسیدانی در مهار پراکسیداسیون لیپیدی تـــــوسط عصاره تام دانه های گیاه *سکوریژرا سکوریداکا* نقش چندانی نداشته است.

۶-تشکر و قدردانی

این مطالعه از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برخوردار بوده است. وظیفه خود می دانیم از مسئولین محترم پژوهشی دانشگاه و دانشکده داروسازی تبریز سپاس گزاری و قدردانی نماییم.
در پایان نهایت تشکر و قدردانی را از همکاران محترم در مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی و آزمایشگاه

www.SID.ir

Archive of SID

فارماکولوژی و فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی مخصوصا جناب آقای مصطفی خاقانی داریم. از

.

راهنمایی های جناب آقای دکتر محبوب نعمتی در تهیه رژیم غذایی سپاس گزاریم.

References:

1. Libby P., Vascular disease. In: Fauci A.S, Braunwald E , Isselbacher KJ, Wilson JD: Harrison's Principles of internal medicine,14th ed, Mc Graw Hill Co., New York.,1998, Vol (1): 1345-1352.
2. Zou Y., Lu Y., Wei D., Hypocholesterolemic effects of a flavonoid-rich extract of Hypericum perforatum L. in rats fed a cholesterol-rich diet. Agric.Food.Chem., 2005, (53): 2462-66.
3. Amin G., Iranian traditional medicinal plants., 1991, P 131.
4. Johar M., Phitochemical study of Gandeh Talkheh. Pharm. D., Thesis, Tehran University of Medical Sciences. 1987.
5. Ghahraman A., Iranian Chromophits. FirstEd, University publication centre, Tehran, 1993, Vol (2): 433-465.
6. Chatterjee ML., De MS, Roy AR.Pharmacological studies on the seeds of Scurigera securidaca on normal blood sugar of cat and rabbit. Bulletin of the Calcutta School of Tropical Medicine، 1965, 13(1): 12-14.
7. Al-Hachim، Maki B. Effects of Securegera securidaca on electroshock seizure threshold in mice. Psychol Rep., 1969, (24): 551-553.
8. Ali A.A., Mohammed MH., Kamel MS., Fouad MA., Spring O. Securigera securidaca (L.) seeds, an antidiabetic Egyption folk medicine. Pharmazie., 1998, (53): 710-715.
9. Komissarenko AN., Kovalev VN., Hydroxycoumarins and flavones of Securigera securidaca. Khimiya Prirodnykh Soedinenii., 1987, (2): 298-299.
10. Anila L., Vijayalakshmi NR. Flavonoids from Emblica officinalis and Mangifera indica effectiveness for dyslipidemia. Journal of Ethnopharmacology.,2002,(79): 81-87.
11. Moroe H., Honda H., Comparison of endothelial function in the carotid artery between normal and short-term hypercholesterolemic rabbits. Comparative Biochemistry and Physiology.,2006, (144): 197-203.
12. Lee S., Son D., Ryu J.,Lee YS., Jung SH., Kang J., Lee SY., Kim HS., Shin KH. Anti-oxidant Activities of Acanthopanax senticosus Stems and Their Lignan Components. Archibes of pharamacal research., 2004, 27(1): 106-110.
13. Satoh K., Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin chim., 1978, (90): 37-43.
14. Beltowski J., Wojcicka G., Jamroz A., Leptin Decreases Plasma Paraoxonase 1 (PON1) Activity and Induces Oxidative Stress: The Possible Novel Mechanism for Proatherogenic Effect of Chronic Hyperleptinemia. Atherosclerosis.,2003, 170(1): 21-29.
15. Baum JA., Teng H., Erdman JW.,Weigel RM., Klein BP., Persky VW., Freels S., Surya P., Bakhit RM., Ramos E., Shay NF., Potter SM., Long term intake of soy protein improves blood lipid profile and increases mononuclear cell low-density lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic postmenopausal women. American Journal of Clinical Nutrition., 1998,(58): 545-551.
16. Haslam E., Plant Polyphenols, 1st ed، Cambridge University Press، Cambridge United Kingdom., 1981, 154-195.
17. Ma HY., Zhao ZT.,Wang LJ., Wang Y., Zhou QL., Wang BX. Comparative study on anti-hypercholesterolemia activity of diosgenin and total saponin of Dioscorea panthaica. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. (from abstract)., 2002, 27(7):528-31.
18. Jung HJ., Nama JH., Park HJ., Lee KT.,Park KK.، Kimd WB.، Choi B. The MeOH extract of Pleurospermum kamtschaticum and its active component buddlejasaponin (IV) inhibits intrinsic and extrinsic hyperlipidemia and hypercholesterolemia in the rat. Journal of Ethnopharmacology., 2007,(112): 255–261.
19. Sierens J., Hartly J., Campbell MJ., leathem AJ. Woodside JV. Invitro isoflavone supplementation reduces hydrogen peroxide-induced DNA damage insperm.Teratogenesis, arcinogenesis،and Mutagenesis., 2002, (2): 227-234.
20. Dufful KG., Ngadjui BT., Simeon KF., Abegaz BM., Croft KD. Antioxidant activity of prenylated flavonoids from the Wes Afvican medicinal plant Dorstenia manii. J., Ethnopharmacol., 2003, (87):67-72.
21. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K., Antioxidant activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. Food chem., 2002, (50): 3549-52.
22. Koshy AS., Anila L.,Vijayalakshmi NR., Flavonoids from Garcinia campogin lower lipids level in hypercholesterolemic rats. Food chem., 2001, (72):289-294.
23. Ng CJ., Shih DM., Hama SY., Villa N., Navab M., Srinivasa TR., The paraoxonase gene family and atherosclerosis. Free Radical Biology & Medicine.,2005, (38): 153-163.
24. El-Beshbishy HA., Singab ANB., Sinkkonen B., Pihlaja K. Hypolipidemic and antioxidant effects of Morus alba L. (Egyptian mulberry) root bark fractions

www.SID.ir

Archive of SID

supplementation in cholesterol-fed rats. Life Sciences., 2006,(78): 2724-2733.
25. Lecumberri E., Goya L., Mateos R., Alía M., Ramos S., Izquierdo-Pulido M., Bravo L., A diet rich in dietary fiber from cocoa improves lipid profile and reduces malondialdehyde in hypercholesterolemic rats. Nutrition., 2007, (23): 332-341.
26. Mathur S.,Devaraj S., Grundy SM., Jialal I. Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. Journal of Nutrition., 2002, (132):3663–3667.

www.SID.ir