

## **The effect of aqua-ethanolic extract of yellow horned poppy (*Glaucium flavum* Crantz) on serum activity of hepatic enzymes and insulin concentration in diabetic male rats induced by alloxan**

**Khoshvaghti A<sup>1</sup>, Darya Gh<sup>2\*</sup>, Bikaran-Nejad P<sup>3</sup>, Zarghami F<sup>3</sup>**

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I. R. Iran.

2- Young Researchers and Elite Club, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I. R. Iran.

3- Young Researchers and Elite Club, Faculty of Medicine, Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran.

Received: 2018/11/29 | Accepted: 2019/03/5

### **Abstract:**

**Background:** *Glaucium flavum* Crantz (Yellow Horned Poppy, YPH) is used to reduce complications of diabetes in Iranian folk medicine. This study was conducted to compare the effect of aqua-ethanolic extract of Yellow Horned Poppy and Glibenclamide on serum levels of AST, ALT, ALP and insulin in diabetic rats induced by alloxan.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 40 adult male Wistar rats were randomly divided into five groups of eight: healthy control, healthy treated with 500mg/kg body weight (BW) of the YPH extract (healthy+YPH), diabetic control, diabetic treated with 500mg/kg BW of the extract (diabetic+YPH), diabetic treated with 5µg/kg BW of Glibenclamide (diabetic+ medicine). Diabetes was induced by injection of alloxan. After a month, blood samples were collected and serum levels of liver enzymes and insulin were also measured. Finally, the data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test.

**Results:** The activity of AST and ALP enzymes in the diabetic+YPH group was significantly higher than that in the diabetic+drug group ( $P=0.04$ ). Also, ALT activity and insulin concentration in diabetic+YPH group significantly increased compared to diabetic control group ( $P<0.001$ ).

**Conclusion:** The findings of this study reveal that oral administration of the YHP extract in addition to its hepatoprotective activity against diabetes-induced stress, can enhance serum insulin level.

**Keywords:** Diabetes mellitus, *Glaucium flavum* Crantz, Liver functional enzymes, Insulin, Rat, Alloxan

**\*Corresponding Author:**

**Email:** ghdarya88@gmail.com

**Tel:** 0098 714 224 3930

**Fax:** 0098 714 223 0508

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2019; Vol. 23, No 2, Pages 117-124*

**Please cite this article as:** Khoshvaghti A, Darya Gh, Bikaran-Nejad P, Zarghami F. The Effect of Aqua-Ethanolic Extract of Yellow Horned Poppy (*Glaucium flavum* Crantz) on Serum Activity of Hepatic Enzymes and Insulin Concentration in Diabetic Male Rats Induced with Alloxan. *Feyz* 2019; 23(2): 117-24.

# تأثیر عصاره آبی- اتانولی شقایق شاخدار زرد (*Glaucium flavum* Crantz) بر فعالیت آنزیم‌های کبدی و غلظت انسولین سرمی موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با آلوکسان

آمنه خوشوقتی<sup>۱</sup>، غلامحسین دریا<sup>۲\*</sup>، پوریا بیکران‌نژاد<sup>۳</sup>، فاطمه ضرغامی<sup>۳</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: گیاه شقایق شاخدار زرد در طب سنتی ایران به‌منظور کاهش عوارض دیابت به کار می‌رود. این مطالعه با هدف مقایسه اثر گیاه شقایق شاخدار زرد و داروی گلین کلامید بر سطح سرمی ALT، AST، ALP و انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، چهل سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۵ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند: کنترل، سالم تیمار با عصاره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (سالم+عصاره)، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دیابتی+عصاره) و دیابتی تیمار با داروی گلین کلامید با دوز ۵ میکروگرم بر کیلوگرم (دیابتی+دارو). دیابت با کمک تزریق آلوکسان القا شد. در انتهای دوره یکماهه، نمونه‌های خون، جمع‌آوری و سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی و انسولین اندازه‌گیری شد. در انتها، نتایج با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعییبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: فعالیت آنزیم‌های AST و ALP در گروه دیابتی+عصاره به‌طور معنی‌داری بیش از گروه دیابتی+دارو بود ( $P=0.04$ ). همچنین فعالیت ALT و غلظت انسولین در گروه دیابتی+عصاره به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش نشان داد ( $P<0.001$ ).

نتیجه‌گیری: از نتایج این پژوهش چنین برداشت می‌شود که مصرف خوراکی عصاره شقایق شاخدار زرد علاوه بر اثر حفاظت کبدی علیه استرس ناشی از دیابت، دارای خاصیت افزاینده انسولین سرمی نیز می‌باشد.

واژگان کلیدی: دیابت، شقایق شاخدار زرد، انسولین، آنزیم‌های عملکرد کبدی، موش صحرایی، آلوکسان

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۲، خرداد-تیر ۹۸، صفحات ۱۲۴-۱۱۷

## مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیک همراه با افزایش قند خون است که می‌تواند به‌دلیل کاهش ترشح انسولین از غده‌ی لوزالمعده، یا مقاومت به انسولین و یا هر دو همراه با افزایش تولید گلوکز از کبد باشد. در این بیماری، ناهنجاری در سوت‌وساز (متابولیسم) کربوهیدرات، پروتئین‌ها و چربی‌ها، نیز وجود دارد. بدن افراد مبتلا به دیابت، توانایی تولید انسولین یا پاسخ به انسولین را ندارد [۱]. در فرآیند دیابت، دوره‌های طولانی هیپرگلیسمی می‌تواند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد به‌ویژه (ROS) شده، مکانسیم دفاع سلولی را مختل نماید.

تولید رادیکال‌های آزاد در افراد مبتلا به دیابت یکی از علل تغییر فعالیت آنزیم‌های کبدی شناخته شده است [۲]. نتایج تحقیقات نشان داده است که سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، همانند AST(Aspartate Amino Acid) و ALP(Alpaline Phosphatase) و ALT(Alanine Amino Transferase) و Transferase) طور قابل توجهی در افراد مبتلا به دیابت افزایش پیدا می‌کند [۳]. هیپرگلیسمی و کتواسیدوز دیابتی معمول‌ترین عوارض حاد دیابت هستند. هیپوگلیسمی (یا واکنش به انسولین) متداول‌ترین عارضه انسولین درمانی بوده، ممکن است حتی بر بیماران مصرف کننده‌ی داروهای محرك ترشح انسولین نیز اثر گذارد [۴]. مهم‌ترین وظیفه انسولین افزایش جریان و تبدیل سوت‌های متابولیک (گلوکز، اسیدهای چرب و آمینواسیدها) به فرم ذخیره‌ای آن‌ها (گلیکوژن، تری‌گلیسرید و پروتئین) و در مقابل کاهش مصرف این سوت‌های متابولیک می‌باشد. ترشح انسولین پس از صرف غذا، برداشت گلوکز، اسیدهای آمینه و چربی به وسیله‌ی بافت‌ها (عمدتاً کبد، بافت چربی و ماهیچه) را افزایش می‌دهد. تولید انسولین با افت میزان قند خون کاهش می‌یابد. تعادل میان میزان انسولین و گلوکاگون برای هموستاز طبیعی گلوکز، سوت‌وساز اسیدهای چرب و نگهداری پروتئین ضروری است [۵]. اخیراً تمایل زیادی در تشخیص ترکیبات آنتی‌اسیدانی با کاربرد طبی یا خوراکی که

- دانشیار، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
- دانش آموخته دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
- دانشجوی دکتری عمومی پزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\***لشان نویسنده مسئول:**  
کازرون، کیلومتر ۵ جاده بوشهر، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی

تلفن: ۰۹۱۷۱۲۵۱۶۴۰، دوچرخه: ۰۷۱۴۲۲۳۰۵۰۸

پست الکترونیک: ghdarya88@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴، تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۸

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاه شقایق شاخ دار زرد در اوایل فصل بهار از مراتع اطراف شهرستان کازرون جمع‌آوری شدند. اندام‌های هوایی گیاه بعد از خشک شدن در سایه، با استفاده از آسیاب برقی پودر و جهت تهیه عصاره به آزمایشگاه منتقل شد. پودر به دست آمده را به نسبت ۵۰/۵۰ با آب و الكل اتانول ۹۶ درصد به مدت ۷۲ ساعت خیسانده، سپس صاف شد و در مرحله آخر در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد تا آب و الكل تغییر شده، یک شیره قهوه‌ای غلیظ باقی بماند. از ۱۰۰۰ گرم وزن خشک گیاه ۱۰۰ گرم عصاره خالص به دست آمد. به منظور رسیدن به غلظت مورد نظر، مقدار مورد نیاز از عصاره در سرم فیزیولوژی حل و سوسپانسیون حاصل به صورت روزانه با کمک گاواژ به حیوانات خورانده شد [۱۵]. پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که به مدت یک ماه در بهار سال ۱۳۹۶، بر روی ۴۰ سرموش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم به مدت ۳۰ روز انجام شده است. حیوانات از مرکز تکثیر و پرورش دانشگاه آزاد اسلامی تهیه و در بخش نگهداری حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. حیوانات در طول دوره آزمایش، به جز در روزهای القای دیابت و خون‌گیری به صورت نامحدود دسترسی به آب و غذا داشته، نوردهی روزانه به صورت دوازده ساعته بود. در تمامی مراحل انجام این پژوهش، مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قانون مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. حیوانات مورد استفاده در این پژوهش ابتدا توزین شده، سپس به خزانه‌های جداگانه انتقال داده شدند. حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شده‌اند: کنترل، سالم تیمار با عصاره خوارکی شقایق شاخ دار زرد با دوز روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن بدن (سالم+ عصاره)، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره شقایق شاخ دار زرد با دوز روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن بدن (دیابتی+ عصاره) و دیابتی تیمار با داروی گلیکلین کلامید با دوز (دیابتی+ عصاره) و دیابتی تیمار با داروی گلیکلین کلامید با دوز روزانه ۵ میکروگرم بر کیلوگرم بر حسب وزن بدن (دیابتی+ دارو). القای دیابت با کمک تزریق داخل صفاتی ماده آلوکسان متونهیدرات (Sigma Alderich، آمریکا) به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن انجام گرفت. لازم به ذکر است به منظور افزایش تأثیرگذاری آلوکسان، تزریق پس از هشت ساعت محدودیت غذایی صورت پذیرفت. سه روز پس از تجویز آلوکسان، در حالت ناشتا خون‌گیری از انتهای دم انجام شد و تست قند با کمک دستگاه گلوکومتر (Easygluco، کره‌جنوبی) صورت پذیرفت. اعداد بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان

دارای توان فارماکولوژیکی، بدون اثرات جانبی یا حداقل با کمترین اثرات جانبی باشد، به وجود آمده است [۶]. قبل از کشف انسولین و همچنین داروهای ضد دیابت رایج، بیماران دیابتی با گیاهان دارویی و درمان‌های سنتی معالجه می‌شدند. تاکنون تأثیر مثبت بیش از ۱۲۰۰ گیاه دارویی در کاهش میزان قند خون و یا عوارض ناشی از آن شناخته شده است [۷]. سرده شقایق از تیره خشخاش بهدلیل اهمیت دارویی و اقتصادی که دارد، در دنیا داروسازی مورد توجه می‌باشد. شقایق به طور معمول در اوایل تا اواسط بهار گل می‌دهد و آن را نشانه نشاط و سعادت می‌دانند [۸]. گونه شقایق شاخ دار زرد (کلاتین) (*Glaucium flavum*) (Crantz) یک گیاه یکساله، دوساله یا چندساله با ظاهری غیرمعمول و دارای برگ‌های سبز مایل به زرد می‌باشد که در طول لبه‌های خود پیچیده و گره خورده‌اند [۹]. این گیاه سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی همچون: آپورفین (Aporphine)، پروتوپین (Protopine) و پروتوبربرین (Protopine) بوده که در این میان گلوسین (Glaucine) از زیرخانواده آپورفین مهم‌ترین ترکیب آلکالوئیدی آن به شمار می‌رود. گلوسین از دیدگاه فارماکولوژیک خواص گشاد کننده‌گی نای، ضد التهابی و ضد سرفه دارد [۱۰]. بربرین مشتق شده از پروتوبربرین، آلکالوئید شناخته شده‌ای است که در بسیاری از گیاهان این تیره یافت می‌شود. کاربرد عمده بربرین در صنعت داروسازی به عنوان آنتی‌بیوتیک می‌باشد. توانایی این آلکالوئید در کاهش قند خون زمانی کشف شد که از آن برای درمان اسهال در بیماران دیابتی استفاده می‌شد [۱۱]. تحقیقات اخیر نیز خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سلطانی و ضد ویروسی را به کاربردهای احتمالی این گیاه دارویی افزوده است [۱۲، ۱۳]. آلوکسان یک آنالوگ سمی گلوکز است که با انتقال توسط کanal (GLUT2) به سلول‌های بنتای پانکراس، درون سلول‌ها مجتمع شده، در حضور تیول‌ها باعث ایجاد گروه‌های ROS شده، با نابودی سلول‌های بنتای پانکراس دیابت را القا می‌کند [۱۴]. در این مطالعه، اثر مصرف خوارکی عصاره گیاه شقایق شاخ دار زرد در دوز روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در یک بازه سی روزه و در مقایسه با داروی شیمیابی شناخته‌شده گلیکلین کلامید بر سطح سرمی فعالیت آنزیم‌های کبدی و غلظت انسولین سرمی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار دیابتی شده با آلوکسان مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت اثبات اثرات کاهنده‌گی عوارض دیابت و افزاینده انسولین سرمی، از آن به عنوان گزینه‌ای بهمنظور بهبود علائم و عوارض بیماری شایع دیابت و یا کاهش عوارض آن بهره‌برداری شود.

می‌نمود ( $P<0.001$ ). درنهایت میانگین سطح فعالیت مشاهده شده برای آنزیم AST در مقایسه گروه‌های دیابتی+ عصاره و دیابتی+ دارو نیز معنی‌دار بوده است ( $P=0.04$ ). (نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۱).

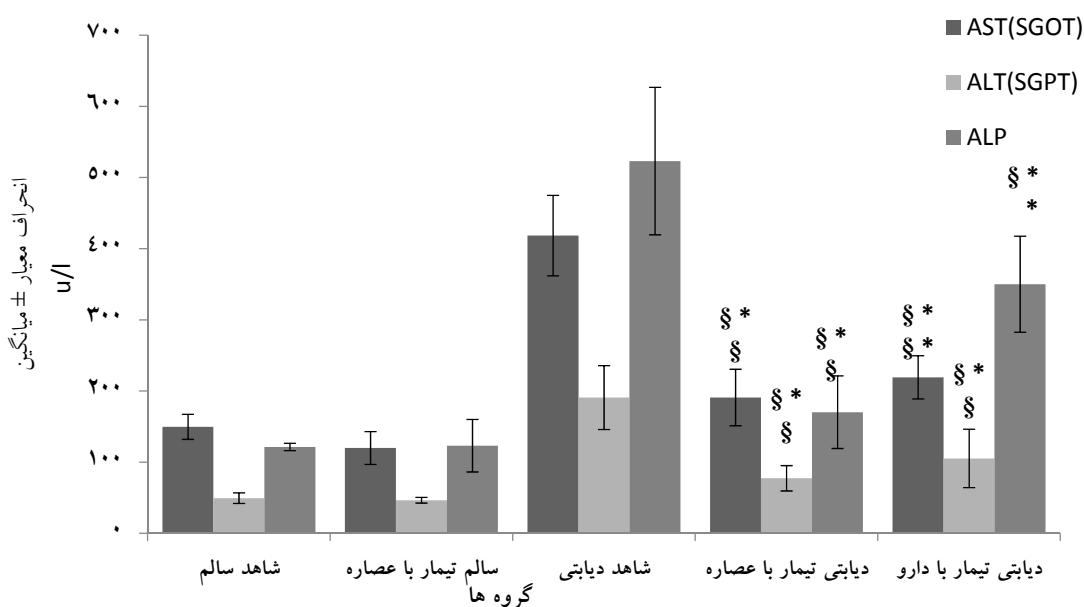
تأثیر عصاره شقایق شاخ دار زرد بر فعالیت ALT سرم در مقایسه گروه‌های کترول و سالم+ عصاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0.05$ ). اما در مقایسه گروه کترول و شاهد دیابتی افزایشی معنی‌دار در سطح ( $P<0.001$ ) مشاهده شد. همچنین فعالیت سرمی آنزیم مذکور در گروه کترول همچنان کمتر از گروه دیابتی+ عصاره بوده است ( $P=0.02$ ): حال آن‌که میانگین گروه دیابتی+ عصاره به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش یافته بود ( $P<0.01$ ). در مقایسه میان گروه‌های دیابتی+ عصاره و دیابتی+ دارو نیز تفاوت معنی‌داری گزارش نشد ( $P>0.05$ ). (نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۱)

تأثیر عصاره شقایق شاخ دار زرد بر فعالیت ALP سرمی در مقایسه دو گروه سالم یعنی کترول و سالم+ عصاره هیچ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P>0.05$ ): حال آن‌که در مقایسه گروه کترول و شاهد دیابتی، تفاوت در سطح ( $P<0.001$ ) بوده است. همچنین در مقایسه گروه کترول و دیابتی+ عصاره تفاوت معنی‌دار بوده است ( $P=0.03$ ). اما تفاوت میان گروه کترول و دیابتی+ دارو به مراتب معنی‌دارتر بوده، در سطح ( $P<0.001$ ) ثبت شد. مقایسه گروه شاهد دیابتی و دیابتی+ عصاره نیز کاهش معنی‌داری را در سطح ( $P<0.01$ ) نشان می‌دهد، میانگین گروه دیابتی+ عصاره به طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی+ دارو بوده است ( $P=0.04$ ). (نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۱)

دیابتی تلقی و بلافضلله درمان در آن گروه‌ها آغاز شد. در پایان آزمایش، حیوانات با اتر بیهوده شده، نمونه‌های خون از بطن چپ جمع‌آوری، در لوله‌های حاوی EDTA سانتریفیوژ ریخته، و مایع روی آن جدا شد. سپس جهت آنالیزهای بعدی فریز شد. غلظت هورمون انسولین با استفاده از کیت تشخیصی (Mercodia سوئیس) ویژه موش و موش صحرابی با محدوده اندازه‌گیری  $\mu\text{gr}/\text{lit}$  ۱۵ و با دقت اندازه‌گیری  $0.5 \mu\text{gr}/\text{lit}$  بهروش ایمنی-سننجی (Immunoassay) مبتنی بر الایزای ساندویچی با کمک دستگاه الایزا ریدر (Biotek ELX، امریکا) قرائت شد. آنزیم‌های ALT، ALP AST موجود در سرم یا پلاسمای حیوانات مورد نظر با استفاده از کیت تشخیص کمی Alkaline Phosphatase (شرکت Pars Azmun آلمان) بهروش فتوتمتریک و با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر (انگلیس series 2040 cecil) اندازه‌گیری شدند. نتایج ثبت شده برای موش‌های هر گروه میانگین‌گیری شده، روابط معنی‌داری با کمک آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تست تعقیبی توکی (tukey) در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ موردن تجزیه و تحلیل قرار گرفته،  $P<0.05$  مبنای معنی‌داری تفاوت میانگین‌ها در مقایسه گروه‌ها واقع شد.

## نتایج

تأثیر عصاره شقایق شاخ دار زرد بر فعالیت AST سرم میانگین به دست‌آمده برای گروه سالم+ عصاره به طور معنی‌داری کمتر از گروه کترول گزارش شد ( $P=0.05$ ). میانگین گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه کترول به طور معنی‌داری در سطح ( $P<0.001$ ) بیشتر بود. مقایسه گروه کترول و دیابتی+ عصاره نیز معنی‌دار بود ( $P=0.03$ ) در حالی که میانگین به دست‌آمده از گروه دیابتی+ عصاره به طور معنی‌داری از گروه شاهد دیابتی کمتر



نمودار شماره ۱- مقایسه سطوح فعالیت سرمی آنزیم های کبدی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) موش های صحرابی نر بالغ در ۵ گروه (n=8)

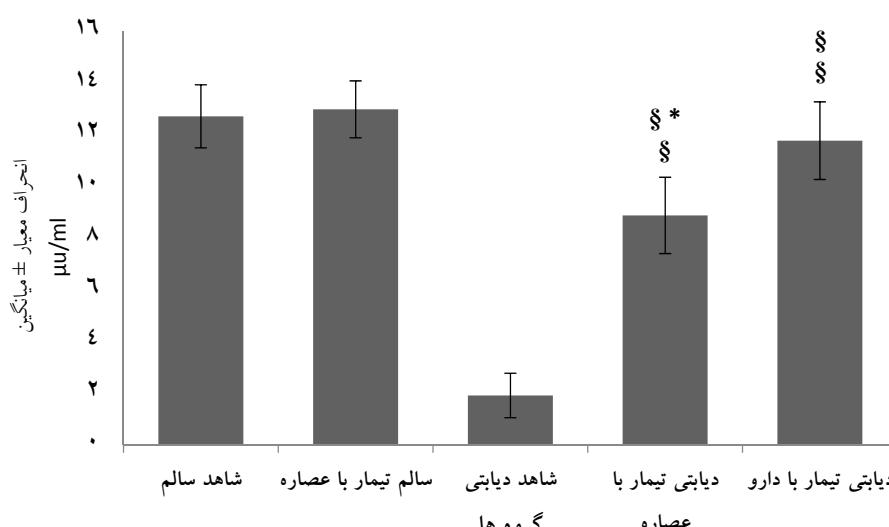
\*: مقایسه گروه کنترل و گروه های دیابتی تیمار با عصاره و دارو (P<0.001), \*\*: (P<0.05), §§: (P<0.001)

§: مقایسه گروه شاهد دیابتی و گروه های دیابتی تیمار با عصاره و دارو (P<0.05), (P<0.001): §§§

دیابتی + عصاره همچنان در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کمتر بوده است (P=0.03). مقایسه گروه کنترل و دیابتی + دارو هم نشان دهنده رسیدن میانگین این گروه به سطح گروه کنترل بوده است (P>0.05). درنهایت، میانگین ثبت شده برای گروه دیابتی + عصاره از میانگین گروه دیابتی + دارو به طور معنی داری کمتر بوده است (P=0.03). (نمودار شماره ۲ و جدول شماره ۱)

#### تأثیر عصاره شفایق شاخ دار زرد بر انسولین سرمی

تفاوت های ثبت شده برای میانگین ها در دو گروه کنترل و سالم + عصاره بی معنی بوده است (P>0.05). حال آن که غلظت سرمی این آنزیم به طرز معنی داری در مقایسه دو گروه کنترل و شاهد دیابتی کاهش داشته است (P<0.001). همچنین علی رغم افزایش ثبت شده برای گروه دیابتی + عصاره در قیاس با گروه شاهد دیابتی (P<0.001): اما این افزایش مشاهده شده در گروه



نمودار شماره ۲- مقایسه تغییرات غلظت انسولین سرمی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) موش های صحرابی نر بالغ در ۵ گروه (n=8)

\*: مقایسه گروه کنترل و گروه های دیابتی تیمار با عصاره و دارو (P<0.001), \*\*: (P<0.05), §§: (P<0.001)

§: مقایسه گروه شاهد دیابتی و گروه های دیابتی تیمار با عصاره و دارو (P<0.05), (P<0.001): §§§

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین تناحراف معیار فعالیت آنزیم‌های AST, ALP, ALT در سرم خون موش‌های صحرایی نر بالغ در ۵ گروه (n=۸)

گروه‌ها					
دیابتی تیمار با عصاره		شاهد دیابتی		سالم تیمار با عصاره	
دیابتی تیمار با دارو				کترل	
۲۱۹/۲۵±۱۰/۷۲	۱۹۰/۸۷±۱۴/۰۲	۴۱۸/۳۷±۱۹/۹۸		۱۱۹/۸۷±۸/۱۶	۱۴۹/۶۲±۶/۲۲
abcd	abc	ab	a		AST
۱۰۵/۲۵±۱۴/۰۰	۷۷/۳۷±۶/۲۸	۱۹۰/۷۵±۱۵/۸۷	۴۶/۵۰±۱/۴۰	۴۹/۳۷±۲/۶۱	u/l ALT
abc	abc	ab			
۳۵۰/۱۳±۲۳/۸۴	۱۷۰/۲۵±۱۸/۰۳	۵۲۳/۱۲±۳۶/۶۲	۱۲۳/۱۲±۱۳/۰۶	۱۲۱/۳۸±۱/۸۱	ALP
abcd	abc	ab			
۱۱/۷۷±۱/۵	۸/۸۸±۱/۴۷	۱/۹۲±۰/۸۶	۱۲/۹۸±۱/۱	۱۲/۷۱±۱/۲۲	μu/ml Insulin
cd	abc	ab			

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه: حروف لاتین بیانگر تفاوت معنی دار در سطح ( $P<0.05$ ). a: تفاوت معنی دار با گروه کترل، b: تفاوت معنی دار با گروه سالم تیمار با عصاره، c: تفاوت معنی دار با گروه شاهد دیابتی و d: تفاوت معنی دار با گروه دیابتی تیمار با عصاره

گروه شاهد دیابتی، بلکه در گروه‌های تحت درمان با عصاره و دارو، البته با شدت کمتری در قیاس با گروه‌های سالم مشاهده شد. لازم به ذکر است، میانگین‌های ثبت شده برای فعالیت‌های این سه آنزیم در گروه‌های تحت درمان با عصاره به طور واضحی هم از گروه شاهد دیابتی و هم از گروه دریافت‌کننده دارو کمتر بود که این خود بیانگر وجود اثر حفاظت کبدی در عصاره این گیاه است. از آنجا که کبد نقش غیرقابل انکاری در تنظیم قند خون در فواصل زمانی طولانی از طریق گلوکونوئزز دارد، لیکن تغییرات انسولین خون تأثیر قابل توجهی بر کارکردهای طبیعی آن خواهد داشت [۲۰]. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که با تزریق آلوکسان و در نتیجه‌القای هایپرگلیسمی، مکانیسم‌های تخریبی متعددی در این بافت آغاز شده باشند. از آن جمله می‌توان به افزایش کتوئزز در اثر از دست رفتن اثر انسولین بر کبد و در نتیجه ایجاد کتوز در ادامه روند عدم دریافت انسولین اشاره کرد [۲۱]. همچنین افزایش استرس اکسیداتیو که پای ثابت دیابت کترن شده بوده نیز بر صدمات کبدی و بهویژه آسیب غشای سلولی می‌افزاید و در نهایت به نشت آنزیم از سلول‌ها انجامیده، فعالیت خونی آن‌ها را افزایش می‌دهد [۳]. مهم‌ترین نتیجه به دست آمده از این مطالعه، کاهش فعالیت آنزیم‌های عملکردی کبد در سرم و نیز افزایش غلظت سرمی هورمون انسولین، متعاقب مصرف عصاره شقایق شاخدار زرد در گروه دیابتی+ عصاره بوده است. برای این یافته می‌توان سازوکارهای مولکولی متنوعی متصور شد، لیکن احتمال می‌رود مهم‌ترین ترکیب موجود در عصاره این گیاه که توانسته است با استرس ناشی از دیابت مقابله کرده، ترشح انسولین را تحريك نماید، همان ترکیبات آلkalولئیدی فراوان آن باشد؛ چرا که

بخت اخیراً تمایل زیادی در تشخیص ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با منشأ گیاهی واحد خواص فارماکولوژیکی، بدون اثرات جانبی یا حداقل با کمترین اثرات جانبی به وجود آمده است؛ چنان‌که در بسیاری از موارد جایگاه قابلی در پزشکی و صنعت غذایی یافته‌اند [۱۶]. از سویی دیگر، امروزه با توجه به اثرات جانبی و هزینه‌های گزارف داروهای شیمیایی، مطالعه بر روی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی با هدف مرتفع ساختن این قبیل مشکلات در علم پزشکی اولویت یافته است [۱۷]. گیاهان دارویی دارای نسبت‌های طبیعی از ترکیبات مؤثره هستند که احتمال عوارض جانبی پس از مصرف درازمدت آن‌ها را کاهش می‌دهد. بسیاری از این گیاهان منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که اثرات ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیز طیف وسیعی از بیماری‌ها را التیام می‌بخشند؛ گیاه شقایق شاخ‌دار زرد را نیز می‌توان در این دسته قلمداد نمود [۱۸، ۱۹]. آنزیم‌های اندازه‌گیری شده در این پژوهش AST, ALP و (LFT) در واقع، بخشی از آزمایشات عملکردی کبد (Liver Functional Test (LFT)) می‌باشند که به منظور تعیین میزان و نوع صدمات واردہ به بافت یا مجاری کبد، هدف مطالعه آزمایشگاهی قرار می‌گیرند. از میان این سه نیز معمول‌ترین آزمایش‌ها با هدف تعیین مقدار ALP بوده است. میانگین‌های به دست آمده برای ALT و AST که شاخصی برای صدمات کبدی می‌باشد، در واقع آنزیم‌های درون‌سلولی هپاتوسیت‌هاست که به خون نشست کرده‌اند [۱۹]. در این مطالعه نیز آن‌گونه که پیش‌بینی می‌شد با القای دیابت توسط آلوکسان، فعالیت آنزیم‌های موجود در سرم حیوانات دیابتی افزایش یافت که این افزایش نه تنها در

آبی و آبی- الکلی میوه گیاه حراً بر موش‌های دیابتی مطابقت داشته، آنچنان که نتایج آن مطالعه نشان داد، عصاره گیاهی میوه حراً توانسته به طور معنی‌داری میزان انسولین سرمی موش‌های دیابتی را افزایش دهد. احتمال داده می‌شود میوه این گیاه به دلیل برخورداری از طیف وسیع ترکیبات ضدیابتی می‌تواند با مکانیسم‌های متعددی نظری مهار گلوکونوژنز و جذب گلوکز از دیواره روده، تحریک گلیکوژنز و آزادسازی انسولین، اثرات خود را اعمال کند [۲۷]. در پژوهشی دیگر که بر روی اثر عصاره‌ی آبی صمعن گیاه آنفوزه بر سطح سرمی انسولین و گلوکز خون در موش‌های صحرایی دیابتی صورت گرفته، نشان داده شده است که این عصاره گیاهی احتمالاً با تحریک سنتز و ترشح انسولین و هپرپلازی سلول‌های باقی مانده بتای پانکراس، گلوکز خون را کاهش می‌دهد. جمع‌بندی نتایج مطالعات فوق بیانگر آن است که، داروهای گیاهی به‌دلیل داشتن آلkaloidهای و فیرهایا با سازوکارهای مطرح شده خاصیت کاهنده‌ی گلوکز خون را از خود بروز می‌دهند [۲۸]. در مطالعه حاضر، افزایش در میزان انسولین در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده عصاره آبی- اتانولی شقایق شاخ دار زرد با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حاکی از آن است که عصاره مورد نظر دارای خاصیت کاهنده‌ی قند خون با مکانیسم احتمالی تحریک ترشح انسولین و تحریک برداشت گلوکز توسط سلول‌های کبدی، عضلانی، چربی و ... می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که به احتمال فراوان عصاره آبی- اتانولی گیاه شقایق شاخ دار زرد می‌تواند با متعادل‌کردن آنزیم‌های کبدی AST, ALP, ALT به خصوص آنزیم ALP و AST نسبت به داروی شیمیایی گلین‌کلامید اثر التیام‌بخش بیشتری را نشان دهد که حاکی از خواص حفاظت کبدی آن است. همچنین عصاره مورد بررسی تویانت میزان انسولین گروه‌های دیابتی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش دهد و اثر محرك ترشح انسولینی از خود بروز دهد.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسنده‌گان این مقاله از آقایان: عظیم شهرتی و اسماعیل سهرابی، مسؤولان محترم مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی و مدیریت آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی آزاد اسلامی واحد کازرون صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

Gyurkovska و همکاران در پژوهشی سرکوب مسیر JAK/STAT و سایتوکاین‌های IL-1, IL-6, IL-7, IL-12 و M-CSF و در نتیجه سرکوب التهاب را به گلوسین استخراج-شده از گیاه شقایق شاخ دار زرد نسبت دادند [۲۲]: با در نظر گرفتن یافته‌های Gurzov و همکاران که پیش‌تر اثبات کرده بودند، اختلال در مسیر JAK/STAT در پانکراس، کبد، ماهیچه و بافت چربی یک عامل مهم در ایجاد چاقی و دیابت می‌باشد [۲۳] و نیز Yoshida و همکاران که ضمن مشاهده غلظت‌های بالاتر IL-12 و M-CFS در بیماران دیابتی، این فاکتورها را عامل ایجاد فیبروز دیواره عروقی با واسطه ماکروفازها در این بیماران دانستند [۲۴]، می‌توان مکانیسم منطقی برای سد اصلی دفاعی عصاره این گیاه علیه استرس التهابی ناشی از دیابت ترسیم نمود. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Barvy و Pandey در سال ۲۰۱۱ Sugar-apple (*Annona squamosa* Linnaeus) پذیرفت، خواص متنوعی از آن به ثبت رسید که آن را به عنوان درمانگر طیف گسترده‌ای از بیماری‌های متابولیک و عفونی معرفی می‌کرد؛ که از آن جمله دیابت و اختلالات کبد را می‌توان نام برد. این محققان عمدۀ اثر این گیاه را در آلkaloidهای متعدد و متنوع آن از جمله گلوسین می‌دانند [۲۵]. از سویی دیگر Zhang و همکاران بربرین که آلkaloidی مشتق‌شده از پروتوبربرین می‌باشد را واجد عملکردی مشابه انسولین می‌دانند و ادعا می‌کنند این آلkaloid با فعال‌سازی پروتئین کیاز وابسته به AMP در رده‌های سلولی چربی، پیش‌ساز عضله و هپاتومای کبد، وزیکول‌های حاوی گیرنده‌های GLUT4 را ترغیب به حضور در سطح غشای سلولی و برداشت گلوکز محلول در محیط کشت نموده است. این یافته اگرچه با نتایج این مطالعه که کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی را نشان می‌دهد، هم‌خوانی داشته اما نمی‌تواند افزایش غلظت انسولین سرمی را توجیه کند. حال آن‌که Gao و همکاران در مطالعه‌ای دیگر با افزودن بربرین به محیط کشت رده‌ی سلولی بتای پانکراس که در مواجهه با پالمیتات چهار تغییرات مرحله ابتدایی مرگ سلولی شده بودند، ضمن مشاهده توقف روند آپوپتوز، افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا را گزارش نمودند و با کمک آنالیز بیان ژن، این افزایش را بیشتر ناشی از افزایش بیان ژن انسولین می‌دانند [۲۶]، یافته اخیر قربت بیشتری با یافته‌های حاصل از این مطالعه مبنی بر افزایش غلظت انسولین در گروه دیابتی+ عصاره دارد. مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج پژوهش‌های مشابه بر روی دیگر گیاهان دارویی همچون اثر عصاره

**References:**

- [1] Codner E, Eyzaguirre FC, Iñiguez G, López P, Pérez-Bravo F, Torrealba IM, et al. Ovulation rate in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Fertility Sterility* 2011; 95(1): 197-202.
- [2] Eze E, Dawud F, Zainab A, Jimoh A, Malgwi I, Isa A. Preliminary studies of effects of vitamin C and zinc on some liver enzymes in alloxan-induced diabetic wistar rats. *Asian J Med Sci* 2012; 4(1): 17-22.
- [3] Atiba AS, Oparinde DP, Babatunde OA, Niran-Atiba T, Jimoh AK, Adepeju A. Liver enzymes and lipid profile among type 2 diabetic patients in Osogbo, Nigeria. *Greener J Med Sci* 2013; 3(5): 174-78.
- [4] Franz MJ. Medical nutrition therapy for diabetes mellitus and hypoglycemia of nondiabetic origin. Krause's food. 2008. P. 764-8.
- [5] JW A. Diabetes Mellitus: Medical nutrition therapy. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 103-112.
- [6] García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Res* 2009; 58(9):537-52.
- [7] Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomed* 1995; 2(2): 137-89.
- [8] Asadi-Samani M, Moradi MT, Mahmoodnia L, Alaei S, Asadi-Samani F, Luther T. Traditional uses of medicinal plants to prevent and treat diabetes; an updated review of ethnobotanical studies in Iran. *J Nephropath* 2017; 6(3): 118.
- [9] Bercu R, Făgăraş M, Jianu LD. Anatomy of the endangered plant *Glaucium flavum* Cr., occurring on the Romanian Black Sea littoral. In: Gafta D., Akeroyd J. (eds) Nature Conservation: Springer, Berlin: Springer; 2006. P. 273-80.
- [10] Cortijo J, Villagraña V, Pons R, Berto L, Martí-Cabrera M, Martinez-Losa M, et al. Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine: In vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. *Brt J Pharmaco* 1999; 127(7): 1641-51.
- [11] Zhang Y, Li X, Zou D, Liu W, Yang J, Zhu N, et al. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. *J Clin Endocrinol Metabol* 2008; 93(7): 2559-65.
- [12] Spasova M, Philipov S, Nikolaeva-Glomb L, Galabov A, Milkova T. Cinnamoyl-and hydroxycinnamoyl amides of glaucine and their antioxidative and antiviral activities. *Bioorgan Med Chemist* 2008; 16(15): 7457-61.
- [13] Bourrine L, Bensalem S, Peixoto P, Gonzalez A, Maiza-Benabdesselam F, Bedjou F, et al. Revealing the anti-tumoral effect of Algerian *Glaucium flavum* roots against human cancer cells. *Phytomed* 2013; 20(13): 1211-18.
- [14] West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Med* 2000; 17(3): 171-80.
- [15] Germano M, D'Angelo V, Sanogo R, Morabito A, Pergolizzi S, De Pasquale R. Hepatoprotective activity of *Trichilia roka* on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *J Pharmacy Pharmaco* 2001; 53(11): 1569-74.
- [16] Srivastava Y, Venkatakrishna-Bhatt H, Verma Y, Venkaiah K, Raval B. Antidiabetic and adaptogenic properties of *Momordica charantia* extract: an experimental and clinical evaluation. *Phytother Res* 1993; 7(4): 285-89.
- [17] Subramoniam A. Plants with Anti-Diabetes Mellitus Properties: CRC Press; 2016. p. 53-57
- [18] Nikolova MT, Berkov SH, Doycheva IV, Stoyanov SS, Stanilova MI. GC/MS based metabolite profiling of five populations of *Glaucium flavum* (Ranunculales: Papaveraceae) from the Black Sea coast of Bulgaria. *Acta Zool Bulgaria* 2018; 11(1):91-94.
- [19] Harris EH. Elevated liver function tests in type 2 diabetes. *Clin Diabetes* 2005; 23(3):115-19.
- [20] Lewis GF, Carpenterier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocrin Rev* 2002; 23(2): 201-29.
- [21] Flatt J-P. Use and storage of carbohydrate and fat. *Am J Clin Nutrition* 1995; 61(4): 952-59.
- [22] Gyurkovska V, Philipov S, Kostova N, Ivanovska N. Acetylated derivative of glaucine inhibits joint inflammation in collagenase-induced arthritis. *Immunopharmac Immuno* 2015; 37(1): 56-62.
- [23] Gurzov EN, Stanley WJ, Pappas EG, Thomas HE, Gough DJ. The JAK/STAT pathway in obesity and diabetes. *The FEBS J* 2016; 283(16): 3002-15.
- [24] Yoshida S, Kobayashi Y, Nakama T, Zhou Y, Ishikawa K, Arita R, et al. Increased expression of M-CSF and IL-13 in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy: implications for M2 macrophage-involving fibrovascular membrane formation. *Brt J Ophthalm* 2015; 99(5): 629-34.
- [25] Pandey N, Barve D. Phytochemical and pharmacological review on *Annona squamosa* Linn. *Int J Res Pharmaceut Biomed Sci* 2011; 2(4): 1404-12.
- [26] Gao N, Zhao TY, Li X. The protective effect of berberine on β-cell lipoapoptosis. *J Endocrinol Investigat* 2011; 34(2): 124-30.
- [27] Kamaei L, Fathi Moghaddam H, Mokhtari M, Mard SA, Moghadamnia D. Effects of *Avicennia marina* fruits aqueous and hydro alcoholic extract on streptozotocin-induced diabetic male rats. *Med Sci J Islamic Azad Uni Tehran Med Branch* 2017; 27(1): 9-16. [in Persian]
- [28] Rahbarian R. Investigating the effects of aqueous extract of Asafoetida (*Ferula assa-foetida*) resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. *J Shahrekord Uni Med Sci* 2014; 16(3): 16-21. [in Persian]