

# تأثیر عصاره آبی اتانولی شقایق کوهی (*Glaucium flavum*) بر شاخص‌های نفروپاتی دیابتی موش صحرایی

غلامحسین دریا<sup>۱</sup>، اردوان نوروزی اصل<sup>۲</sup>، آمنه خوشوقتی<sup>۳</sup>، سیده مریم موسوی<sup>۳</sup>، فرید هاشمی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران، <sup>۲</sup> گروه داخلی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران، <sup>۳</sup> گروه دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۱۰/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۱/۲۸

## چکیده:

زمینه و هدف: گیاه شقایق کوهی در طب سنتی مناطق جنوبی ایران به عنوان یک گیاه ضد دیابت به مصرف می‌رسد. با توجه به عوارض ثانویه گسترده دیابت از جمله نفروپاتی و هیپاتوپاتی؛ این مطالعه با هدف مقایسه اثر گیاه شقایق کوهی و داروی گلیبنکلامید بر تغییر سطوح سرمی نیتروژن اوره خون، کراتینین و بیلی‌روبین‌های تام و مستقیم در موش‌های صحرایی دیابتی القاء شده با آلوکسان صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به پنج گروه مساوی تقسیم شدند؛ کنترل، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره شقایق کوهی با دوز روزانه ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دیابتی تیمار با عصاره با دوز روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیابتی تیمار با گلیبنکلامید با دوز روزانه ۵ میکروگرم بر کیلوگرم. گروه‌های دو تا پنج با تزریق تک دوز آلوکسان به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیابتی شدند. پس از گذشت سی روز، حیوانات بی‌هوش شده و خون گیری از قلب انجام شد. فاکتورهای کراتینین، نیتروژن اوره، بیلی‌روبین تام و مستقیم به روش آنزیماتیک اندازه‌گیری شده و ارقام حاصله با کمک آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین‌های به دست آمده از غلظت تمام فاکتورها در گروه دیابتی تیمار با عصاره ۲۵۰ نسبت به گروه شاهد دیابتی تفاوت معنی‌دار نشان داد ( $p < 0.001$ ). همچنین، تفاوت میانگین‌ها میان دو گروه دیابتی تیمار با عصاره ۵۰۰ و گروه کنترل در فاکتورهای نیتروژن اوره، کراتینین و بیلی‌روبین تام و مستقیم معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ) و این کاهش برای گروه تیمار با دارو محدود به فاکتورهای کراتینین و بیلی‌روبین تام بود.

نتیجه‌گیری: می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً مصرف خوراکی عصاره شقایق کوهی می‌تواند با بهره‌گیری از خواص ضدالتهابی ترکیبات خود از جمله گلوکوسین و نیز تأثیرات آنتی‌اکسیدانی بربرین به بهبود فعالیت پاکسازی کلیوی و کبدی موش‌های دیابتی کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: دیابت، شقایق کوهی، نیتروژن اوره، کراتینین، بیلی‌روبین، موش صحرایی، آلوکسان

\* نویسنده مسئول: غلامحسین دریا، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه دامپزشکی

Email: Ghdarya88@gmail.com



## مقدمه

دیابت ملیتوس یک اختلال آندوکراین است که موجب اختلالات متابولیسمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها می‌شود. این بیماری به وسیله هایپرگلیسمی مزمن که نتیجه نقص در تولید انسولین و یا نقص عملکرد گیرنده‌های انسولینی و یا هر دو آنهاست، مشخص می‌شود. فعالیت اغلب سیستم‌های بدن تحت تأثیر این بیماری قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان به تغییر در عملکرد کلیه‌ها و کبد اشاره کرد(۱).

نفروپاتی دیابتی (ND)<sup>(۱)</sup> یکی از عوارض ابتدایی دیابت بوده که معمولاً حاصل جراحات میکروسکولار گلومرولی است. جراحات مذکور در نتیجه اختلال در هموستاز گلکز حاصل می‌شوند و در آغاز به تراوش مضاعف محتویات سرم به ادرار منجر می‌شود، ولی در صورت عدم درمان به مراحل بعدی شامل؛ میکروآلبومینوری، ماکروآلبومینوری و نقص کارکرد کلیه کشیده خواهد شد(۲). نمای میکروسکوپی نفروپاتی در ابتدا، گلومرولوپاتی‌های منتشر یا ندولار است، اما با پیشرفت بیماری تغییرات پاتولوژیک از جمله هایپرپلازی و هایپرتروفی به توبول‌های بینابینی سرایت کرده و غشای پایه گلومرولی ضخیم می‌گردد، تغییرات آتی شامل؛ تغییرات چربی، انتشار سلول‌های التهابی و نکروز می‌باشد(۳).

کراتینین حاصل تجزیه کراتین فسفات ایجاد شده در مسیر تولید انرژی می‌باشد، هر نوع اختلال در کارکرد کلیه باعث کاهش ترشح کراتینین شده و

مقدار آن در خون بالا می‌رود. افزایش آن در آکرومگالی، کم کاری تیروئید، نارسایی کلیه، دیابت ملیتوس دیده می‌شود. اوره در کبد تشکیل می‌شود و همراه با CO<sub>2</sub> فرآورده نهایی متابولیسم پروتئین می‌باشد. اندازه‌گیری BUN به عنوان اندکس عمده در عملکرد گلومرولی و تولید و ترشح اوره مطرح می‌باشد. در آسیب عملکرد کلیه و آسیب کبدی میزان BUN افزایش می‌یابد. بیلی‌روبین ترکیبی زرد رنگ حاصل از کاتابولیسم هم می‌باشد. هم نیز خود یک ترکیب پایه در گویچه‌های قرمز خون می‌باشد. بیلی‌روبین به درون ادرار و مدفوع دفع می‌شود و افزایش غلظت آن در خون می‌تواند علامت بسیاری از بیماری‌ها باشد(۴ و ۵). از طرفی از بیلی‌روبین به عنوان قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان شناخته شده خون یاد می‌شود که کاهش غلظت آن در دیابت اثبات شده است(۶ و ۷).

داروهای گیاهی به خاطر کم بودن اثرات جانبی، در دسترس بودن، هزینه نسبتاً کم و مؤثر بودن آنها، به طور وسیع در سرتاسر جهان تجویز می‌شوند(۸). گونه شقایق کوهی<sup>(۲)</sup> که به شقایق شاخ‌دار زرد<sup>(۳)</sup> معروف است، مربوط به تیره شقایقیان<sup>(۴)</sup> از راسته آلاله سانان می‌باشد(۹). این گیاه سرشار از ترکیبات آکالوئیدی هم‌چون آپورفین<sup>(۵)</sup>،

1-Diabetic Nephropaty(ND)  
2-Glaucium flavum  
3-Yellow Horne Puppy  
4-Papaveraceae Family  
5-Aporphine

پروتوپین<sup>(۱)</sup> و پروتوبربرین<sup>(۲)</sup> بوده که در این میان گلوکوسین<sup>(۳)</sup> از زیر خانواده آپورفین‌ها مهم‌ترین ترکیب آلکالوئیدی آن به شمار می‌رود (۱۰). از ترکیبات آلکالوئیدی این گیاه به طور گسترده در صنعت داروسازی به عنوان مسکن، ضد احتقان و ضد سرفه بهره‌برداری می‌شود (۱۱)، اما گیاه فوق‌الذکر که در مناطق جنوبی ایران در میان محلی‌ها با نام "کلاتین" معروف است به صورت سنتی به عنوان درمانی برای مرض قند یا همان دیابت به کار برده می‌شود. علاوه بر این، قابلیت کاهندگی قندخون برای این دارو در خرگوش‌های سالم مطالعه و مورد تأیید قرار گرفته است (۱۲).

مطالعه حاضر به منظور بررسی توانایی عصاره هیدروالکی شقایق کوهی در پیشگیری و یا تخفیف اثرات کلیوی دیابت القاء شده با ماده شیمیایی آلوکسان در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد. بدین منظور متغیرهای خونی شامل؛ کراتینین، BUN و بیلی‌روبین تام و مستقیم اندازه‌گیری و با مشاهدات بافت شناختی مطابقت داده شد.

### روش بررسی

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ به مدت ۳۰ روز انجام شده است. در تمامی مراحل انجام این پژوهش مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس قانون مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات مورد

استفاده در این پژوهش در محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ میلی‌گرم توزین شده و در خزانه‌های جداگانه قرار داده شدند. حیوانات به طور تصادف به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شده‌اند؛ کنترل، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره شقایق کوهی با دوز روزانه ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن، دیابتی تیمار با عصاره با دوز روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حسب وزن و دیابتی‌هایی که با داروی گلیبن‌کلامید با دوز ۵ میکروگرم بر کیلوگرم بر حسب وزن (۱۳ و ۱۴).

به منظور افزایش اثر آلوکسان، ابتدا حیوانات گروه‌های دو تا پنج تحت محرومیت غذایی ۸ ساعته قرار گرفته و سپس با کمک تزریق داخل صفاقی تک دوز آلوکسان منوهیدرات (Sigma Alderich، آمریکا) به مقدار ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیابتی شدند (۱۵). هم‌زمان با دریافت آلوکسان به منظور جلوگیری از شوک‌های مرگ‌آور هایپوگلیسمیک، غلظت ۲۰ درصد گلوکز در آب مصرفی حیوانات به مدت ۱۲ ساعت تهیه گردید. پس از گذشتن سه روز از تزریق آلوکسان، درحالت ناشتا قند خون با کمک دستگاه اندازه‌گیری قند (کره جنوبی، Easygluco) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که ابتدا نوار easygluco را در دستگاه گذاشته، با کمک تیغ دم موش‌ها خراش داده و یک قطره از خون موش را روی نوار قرار داده و میزان قندخون از روی مانیتور دستگاه خوانده شده،

1-Protopine  
2-Protoberberine  
3-Glaucine

دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ و سرم مشتق شده از آنها جهت اندازه‌گیری فاکتورها به آزمایشگاه منتقل شدند. بیلی‌روبین تام با روش دیازو و با کمک کیت‌های شرکت (پارس آزمون، ایران)، کراتینین به روش کالریمتریک (ژافه) اندازه‌گیری شدند. در این روش کراتینین با یون پیکرات وارد واکنش شده و تولید رنگ قرمز- نارنجی می‌نماید. هر چه میزان کراتینین بیشتر باشد شدت رنگ نیز بیشتر است. نیتروژن اوره (BUN) به صورت آنزیماتیک اندازه‌گیری می‌شود. در این روش اوره آز که در آن اوره هیدرولیز می‌گردد و یون آمونیوم را می‌توان با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری نمود. واکنش برتولت که در آن آمونیوم در حضور هیپوکلریت با فنل واکنش داده و رنگ آبی تولید می‌نماید. نتایج حاصل از واکنش متغیرها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (BT 350, Biotechnica, ایتالیا) قرائت شد.

جهت بررسی هیستوپاتولوژی بافت کلیه، پس از آماده‌سازی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین، لام‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon E200، ژاپن) بررسی و تصاویر با کمک دوربین (Dino-vit، تایوان) تصویربرداری شدند. در نهایت از نظر تغییرات توپولار، میزان فیبروز فضای بین توپولار، میزان فیبروز فضای بین توپول‌های کلیوی، تغییرات کپسول بومن و گسترش بافت مزانشیال در بین عروق گломروولی هدف مطالعه قرار گرفت.

که مقادیر بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر دیابتی تلقی می‌شدند. دو هفته پس از اطمینان از دیابتی شدن حیوانات مصرف عصاره آبی - الکی شقایق کوهی و دارو آغاز شد (۱۴).

اندام‌های هوایی گیاه شقایق کوهی در اوایل فصل بهار از مراتع اطراف شهرستان کازرون جمع‌آوری و پس از خشک شدن در مجاورت تابش نور در آسیاب برقی (Sunex، چین) پودر گردید. پودر حاصله را به نسبت ۵۰ بر ۵۰ با آب و الکل اتانول ۹۶ درصد به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و سپس آن را صاف نموده و در مرحله آخر در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد تا آب و الکل تبخیر شده و یک شیره قهوه‌ای غلیظ باقی بماند. به منظور تهیه سوسپانسیون مناسب برای گاوآژ معدی، شیره غلیظ با آب مقطر ترکیب شده و به مدت سی روز و هر روز یک نوبت به حیوانات خوراندن می‌شد (۱۶). همچنین با هدف دستیابی به دوز مورد استفاده از داروی دیابت، قرص‌های داروی گلیبن‌کلامید (Glibenclamide Najo، ایران) از داروخانه تهیه و با هاون پودر شده، سپس با اسیدکلریدریک ضعیف (pH=۶) به غلظت معین ترکیب گردید تا ضمن انحلال، مناسب مصرف خوراکی با گاوآژ باشد (۱۷).

پس از گذشت سی روز از شروع تیمار حیوانات، ابتدا حیوانات تحت محرومیت غذایی هشت ساعته قرار گرفته، با کمک اتر بی‌هوش گردیدند و به وسیله سرنگ ده سی‌سی خون‌گیری از قلب آنها انجام شد. خون‌های جمع‌آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه و با

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

اختلاف میان نتایج گروه کنترل با گروه‌های شاهد دیابتی و نیز گروه دیابتی تیمار با عصاره ۲۵۰ و دیابتی تیمار با دارو معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ )، اما با گروه دیابتی تیمار با عصاره ۵۰۰ تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0/05$ ). همچنین گروه شاهد دیابتی با دیگر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نشان داد ( $p > 0/001$ ). در مقایسه دو گروه بیمار دریافت‌کننده عصاره ۲۵۰ و دریافت‌کننده داروی گلیبن‌کلامید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). در مقایسه سه گروه دیابتی تیمار با عصاره و دارو نیز گروه تیمار با عصاره ۵۰۰ تفاوت معنی‌دار با دو گروه دیگر نشان داد ( $p > 0/001$ ) (جدول ۱).

کراتینین خون در مقایسه گروه کنترل و گروه شاهد دیابتی در سطح ( $p > 0/001$ ) و با گروه دیابتی تیمار با عصاره ۲۵۰ در سطح ( $p = 0/045$ ) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، اما در مقایسه با گروه‌های دیابتی تیمار با عصاره ۵۰۰ و تیمار با دارو فاقد ارتباط معنی‌دار بود ( $p > 0/05$ ). گروه شاهد دیابتی نیز با تمام گروه‌ها تفاوت معنی‌دار در سطح ( $p > 0/001$ ) بود. در نهایت در مقایسه میان دو گروه تیمار با عصاره ۲۵۰ و ۵۰۰ و گروه تیمار با دارو اختلاف

معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ) (جدول ۱). بیلی‌روبین تام در مقایسه گروه شاهد دیابتی و گروه‌های کنترل و تیمار با عصاره ۲۵۰ و تیمار با عصاره ۵۰۰ و تیمار با دارو واجد تفاوت معنی‌دار در سطح ( $p > 0/001$ ) بود، اما گروه کنترل فاقد تفاوت معنی‌دار هر سه گروه تجربی مشتمل بر تیمار با عصاره ۲۵۰ و تیمار با عصاره ۵۰۰ و تیمار با دارو بود ( $p > 0/05$ ). همچنین تفاوت در میان خود گروه‌های تجربی نیز بدون تفاوت معنی‌دار بود ( $p > 0/05$ ) (جدول ۱).

بیلی‌روبین مستقیم در گروه کنترل با گروه شاهد دیابتی در سطح ( $p > 0/001$ ) و با گروه تیمار با عصاره ۲۵۰ در سطح ( $p = 0/031$ ) و با گروه تیمار با دارو در سطح ( $p = 0/046$ ) تفاوت معنی‌دار داشته است. حال آن‌که، میانگین‌های به دست آمده از این گروه در مقایسه با گروه تیمار با عصاره ۵۰۰ معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ). گروه شاهد دیابتی به جز گروه کنترل تنها با گروه تیمار با عصاره ۵۰۰ تفاوت معنی‌دار داشته است ( $p = 0/03$ ) و تفاوت میانگین آن با دیگر گروه‌ها بی‌معنی بوده است ( $p > 0/05$ ). در آخرین مقایسه، تفاوت میان گروه‌های تجربی شامل؛ تیمار با عصاره ۲۵۰، تیمار با عصاره ۵۰۰ و نیز گروه تیمار با دارو معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ) (جدول ۱).

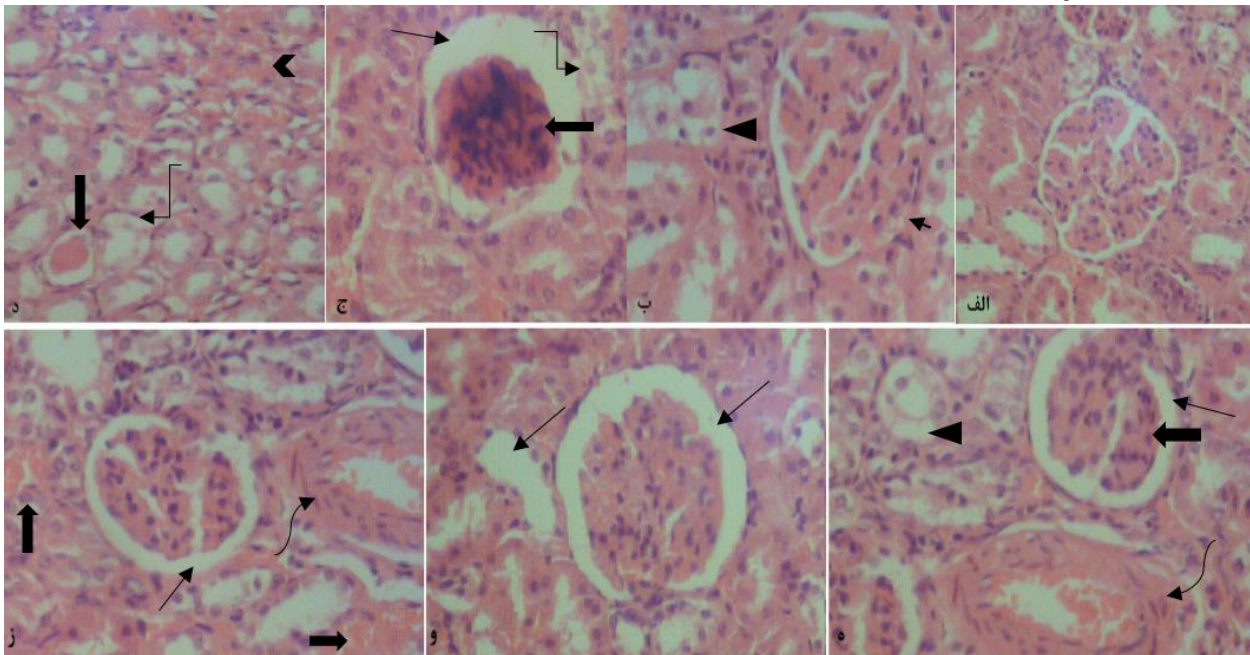
در انتها، مشاهده غیرکمی تغییرات پاتولوژیک مقاطع بافتی گروه‌های حاضر در این مطالعه، نتایج به دست آمده از متغیرهای خونی را تأیید می‌نماید (تصویر ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار فاکتورهای بیوشیمیایی خون در پنج گروه (تعداد = ۸)

متغیر(واحد)	کنترل	شاهد دیابتی	دیابتی تیماربا عصاره ۲۵۰	دیابتی تیماربا عصاره ۵۰۰	دیابتی تیماربا دارو
BUN (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۶/۶۲ $\pm$ ۰/۸۲	۱۰۲ $\pm$ ۵/۸۵	۶۰/۷۵ $\pm$ ۵/۸۱	۲۲/۷۵ $\pm$ ۳/۳۷	۶۳/۲۵ $\pm$ ۵/۹۵
کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۵۲ $\pm$ ۰/۰۲	۴/۶۶ $\pm$ ۰/۵۵	۲/۰۱ $\pm$ ۰/۳۶	۱/۲۸ $\pm$ ۰/۲۸	۱/۶۵ $\pm$ ۰/۳۲
بیلی‌روبین تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۲۴ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۳۴ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۳۴ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۳۳ $\pm$ ۰/۰۲
بیلی‌روبین مستقیم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۲
			a	b	a

حروف لاتین بیانگر تفاوت معنی‌داری در سطح ( $p < 0.05$ )، a: تفاوت معنی‌دار در مقایسه گروه کنترل و گروه‌های تجربی، b: تفاوت معنی‌دار در مقایسه گروه شاهد دیابتی و گروه‌های تجربی، c: تفاوت معنی‌دار گروه تیمار ۲۵۰ با دو گروه تجربی دیگر و d: بیانگر تفاوت معنی‌دار گروه تیمار ۵۰۰ و تیمار با دارو

\* بیانگر تفاوت در سطح ( $p < 0.001$ )



راهنما: فلش کوتاه (←)، فلش قطور (←←)، فلش باریک (←—)، فلش شکسته (↖)، فلش مواج (↔)، نک فلش (◀)، مثلث (▶)

تصویر ۱: نمای هیستوپاتولوژی کلیه با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) در بزرگ نمایی X400. نمای طبیعی از گلوبمرول و مجاری در گروه کنترل (الف)؛ فلش کوتاه: چسبندگی لایه‌های احشایی و جداری کپسول بومن، مثلث: تغییرات چربی در گروه شاهد دیابتی (ب)؛ فلش باریک: اتصاع شدید فضای ادراری، فلش قطور: پرخونی شدید گلوبمرولی و هیپرسلولاریتی و فلش شکسته: نکروز سلولی در گروه شاهد دیابتی (ج)؛ نُک فلش: خونریزی، فلش قطور: کست هیالینی در توبول‌ها، فلش شکسته: تغییرات نکروتیک و همچنین گسترش بافت مزانشیال در ضمیمه تصویر در گروه شاهد دیابتی (د)؛ فلش باریک: اتصاع اندک فضای ادراری، فلش قطور: پرسلولی محدود، مثلث: تغییرات چربی و فلش منحنی: گسترش فیبروز عروقی در گروه دیابتی تیمار با عصاره ۲۵۰ (ه)؛ فلش باریک: اتصاع محدود فضای ادراری و مجرای ادراری، در گروه دیابتی تیمار با عصاره ۵۰۰ (و)؛ فلش باریک: اتصاع محدود فضای ادراری و پرخونی محدود گلوبمرول، فلش قطور: پرخونی، فلش منحنی: گسترش فیبروز عروقی در گروه دیابتی تیمار با گلین کلامید (ز)؛

## بحث

نفروپاتی یکی از عوارض ابتدایی دیابت، ناشی از ترشح فزآینده گلوکز به فضای ادراری کلیه‌ها بوده که با جراحات میکروواسکولار گلومرول‌ها آغاز و در صورت عدم درمان به نقص در کارکرد این ارگان‌ها منتج خواهد شد (۲). کراتینین، BUN و بیلی‌روبین، شاخص‌های عمده نقص در عملکردهای پاک‌سازی مواد زائد بدن می‌باشند که به طور قابل انتظاری در خون افراد دیابتی افزایش می‌یابند (۵ و ۴). هدف از مطالعه حاضر تعیین و تأثیر عصاره آبی اتانولی شقایق کوهی بر شاخص‌های نفروپاتی دیابتی موش صحرایی بود.

آمارهای جهانی حکایت از درگیری ۲۵ تا ۴۰ درصد از بیماران دیابتی نوع ۱ با عوارض نفروپاتیک آن دارد، که این عدد برای مبتلایان به نوع دوم دیابت رقمی بین ۵ تا ۴۰ درصد برآورد می‌شود (۱۸). همچنین در سال‌های اخیر، گزارشاتی مبنی بر وقوع نفروپاتی‌های دیابتی بدون تغییر در غلظت آلبومین خون در بیماران با دیابت نوع یک گزارش شده است (۱۹).

با استناد به گزارش انجمن ملی دیابت، آمار مبتلایان به این بیماری در ایران قریب به ۸ درصد از کل جمعیت کشور یعنی بیش از سه میلیون نفر برآورد می‌شود (۲۰)، می‌توان چنین برداشت نمود که قریب به نیمی از این بیماران علاوه بر عوارض متعدد دیابت از جمله رتینوپاتی، نوروپاتی، افزایش فشار خون و غیره می‌بایست با عوارض گسترده نفروپاتی‌های دیابتی نیز دست و پنجه نرم کنند (۲۱).

هرچند در حال حاضر درمان اصلی و مؤثر برای دیابت ملیتوس استفاده از انسولین و داروهای هایپوگلیسمیک می‌باشد، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعدد نیز می‌باشند. امروزه با توجه به اثرات جانبی داروهای شیمیایی مطالعه بر روی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی با هدف رسیدن به داروهای جدید در اولویت قرار دارد (۲۲).

از مهم‌ترین نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان به کاهش معنی‌دار غلظت خونی اکثر متغیرهای مورد مطالعه در گروه دیابتی تیمار با عصاره ۲۵۰ نسبت گروه شاهد دیابتی و کاهش این متابولیت‌ها تا سطح طبیعی آن در گروه تیمار با عصاره ۵۰۰ اشاره کرده که این سطح از بهبودی برای گروه تیمار با داروی گلیبن‌کلامید تنها در دو متغیر کراتینین و بیلی‌روبین تام مشاهده گردید. با توجه به اثبات توانمندی گیاه شقایق کوهی در کاهش قند خون در پژوهش‌های گذشته، مشاهده این سطح از بهبودی دور از انتظار نبود (۱۲).

در مطالعه حاضر، با توجه به نتایج مشاهده شد به واسطه ایجاد دیابت به وسیله آلوکسان در گروه‌های دیابتی شده نسبت به گروه کنترل، میزان کراتینین و نیتروژن اوره به طور معنی‌داری افزایش یافت، که این یافته‌ها با توجه به آن که یکی از عوارض دیابت آسیب کلیوی است قابل انتظار می‌باشد (۲۳). سازوکار ایجاد این آسیب به خوبی مشخص نبوده، اما پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که سلول‌های مزانشیال در وضعیت هایپرگلیسمیک، هیدروژن



به گیاه سیب شیرین (*Annona squamosa*) صورت پذیرفت، خواص متنوعی از آن به ثبت رسید که آن را به عنوان درمان‌گر طیف گسترده‌ای از بیماری‌های متابولیک و عفونی نشان می‌داد. از آن جمله، دیابت و اختلالات کلیوی را می‌توان نام برد. این محققان عمده اثر این گیاه را معطوف به آلکالوئیدهای متعدد و متنوع آن از جمله گلوکوسین می‌دانستند (۲۸). از سویی دیگر ژانگ و همکاران بربرین که آلکالوئیدی مشتق شده از پروتوبربرین می‌باشد را واجد عملکردی مشابه انسولین می‌دانند و ادعا می‌کنند این آلکالوئید با فعال سازی پروتئین کیناز وابسته به AMP در رده‌های سلولی چربی، پیش‌ساز عضله و هیپاتومای کبد، وزیکول‌های حاوی گیرنده‌های GLUT4 را ترغیب به حضور در سطح غشای سلولی و برداشت گلوکز محلول در محیط کشت نموده است. گائو و همکاران در مطالعه‌ای دیگر با افزودن بربرین به محیط کشت رده سلولی بتای پانکراس که در مواجهه با پالمیتات دچار تغییرات مراحل ابتدایی مرگ سلولی شده بودند ضمن مشاهده توقف روند آپوپتوز، افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا را گزارش نمودند (۲۹).

در مطالعه‌ای مشابه که به بررسی تغییرات بیوشیمیایی سرم و هیستوپاتولوژیک کلیه در موش‌های دیابتی شده به دنبال تزریق هم‌زمان نانوذرات اکسید روی و ویتامین پرداخته است مشاهده شده، دیابت باعث تخریب و آسیب‌های بافتی مشخصی به ساختار بافتی کلیه گردیده بود. از طرفی درمان با نانوذرات اکسید روی و همراه با

پراکسیداز و پروتئین کیناز بیشتری تولید کرده و از این طریق استرس اکسیداتیو در کلیه گسترش یافته و زمینه‌ساز آسیب کلیه خواهد بود (۲۴).

در این مطالعه، با در نظر گرفتن این واقعیت که عوارض جانبی دیابت در دیگر بافت‌ها عمدتاً حاصل از گذشت زمان و عدم کنترل دیابت می‌باشند، لذا به منظور حذف خطاهای احتمالی حاصل از درمان پیش دیابت و با هدف تمرکز بر عملکرد و بافت کلیه‌ها، یک بازه زمانی دو هفته‌ای از هنگام تأیید دیابت تا زمان شروع درمان فاصله‌گذاری گردید (۱۴).

گیورکوفسکا و همکاران سرکوب مسیر JAK/STAT و سایتوکاین‌های IL-1، IL-6، IL-7، IL-12 و M-CSF و در نتیجه سرکوب التهاب را به گلوکوسین استخراج شده از گیاه شقایق کوهی نسبت دادند (۲۵). گُرزو و همکاران پیش‌تر اثبات کرده بودند، اختلال در مسیر JAK/STAT در پانکراس، کلیه، کبد و چربی یک عامل مهم در ایجاد چاقی و دیابت می‌باشد (۲۶). همچنین یوشیدا و همکاران ضمن مشاهده غلظت بالاتر IL-12 و M-CFS در بیماران دیابتی، این فاکتورها را عامل ایجاد فیروز دیواره عروقی با واسطه ماکروفاژها در این بیماران دانستند (۲۷). جمع‌بندی این یافته‌ها می‌تواند دلیلی منطقی برای بهبود سطوح سرمی کراتینین و نیتروژن‌اوره در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد دیابتی ترسیم نماید.

همچنین، در مطالعه‌ای دیگر که به وسیله پاندی و باروی بر روی نوعی گیاه استوایی موسوم

آن تیمین تا حد کمی از اثرات مخرب آلوکسان  
جلوگیری کرده بود (۳۰).

پژوهش‌ها نشان می‌دهد که مصرف  
آنتی‌اکسیدان‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی موجب  
کاهش آسیب کلیوی شده است (۳۱)، از آنجا که  
آلکالوئیدهای عصاره شقایق کوهی از جمله گلوکسین و  
بربرین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (۳۳ و ۳۲)،  
لذا مطالعه شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کلیوی می‌تواند  
زوایای دیگر تأثیرات ضد دیابتی احتمالی این گیاه را  
آشکار سازد. همچنین واکاوی شاخص‌های سرمی و  
بافتی دیگر ارگان‌ها همچون کبد که به طور عمده از  
دیابت متأثر می‌شوند می‌تواند ابعاد جامع‌تری از  
فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک تعامل بدن و این  
گیاه در شرایط دیابتی را روشن سازد.

### نتیجه‌گیری

برتری وابسته به دوز عصاره آبی الکی  
شقایق کوهی در کاهش سطح BUN خون و برابری  
عصاره با دارو در کاهش سطح کراتینین خون حاکی  
از تأثیر مثبت گیاه در حفظ یا ارتقاء کارکرد کلیه‌ها در  
مواجهه با استرس دیابت در موش‌های صحرایی است.  
همچنین مقایسه نسبت بیلی‌روبین تام به بیلی‌روبین  
مستقیم در میان تیمارشدگان با عصاره و دارو حاکی  
از اثرات مثبت قابل ملاحظه‌تر بر بهبودی عملکرد  
پاک‌سازی کبدی در قیاس با داروی گلین‌کلامید است.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح پژوهشی با کد اخلاق  
IR.IAU.KAU.REC.1398.049 از دانشگاه آزاد اسلامی  
واحد کازرون می‌باشد، که با حمایت این دانشگاه  
انجام شد.

## REFERENCES:

1. Derek LeRoith SIT, Jerrold M. Olefsky. Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text. 3<sup>th</sup> ed. Michigan: Lippincott Williams & Wilkins; 2004; 327-8.
2. Papadopoulou-Marketou N, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: a review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. Diabetes/Metabolism Research and Reviews 2016; 33(2): 2841.
3. Sugahara M, Tanaka T, Inagi R, Nangaku M. Diabetic Kidney Disease. Springer: Diabetes and Aging-related Complications; 2018; 1-17.
4. Rodwell VW, Bender D, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. Harpers Illustrated Biochemistry 30<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill Education; 2015; 25-9.
5. Vinay Kumar AKA, Aster JC. Robbins Basic Pathology. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2013; 743-80.
6. Han SS, Na KY, Chae DW, Kim YS, Kim S, Chin HJ. High serum bilirubin is associated with the reduced risk of diabetes mellitus and diabetic nephropathy. The Tohoku Journal of of Experimental Medicine 2010; 221(2):133-40.
7. Baranano DERM, Ferris CD, Snyder SH. Biliverdin reductase a major physiologic cytoprotectant. Proc Natl Acad Sci 2002; 99(16): 93-8.
8. Hasani-Ranjbar S, Larijani B, Abdollahi M. A systematic review of Iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. Archives of Medical Sciences 2008; 4(3): 285.
9. Bercu R, Făgăraș M, Jianu LD. Anatomy of the endangered plant *Glaucium flavum* Cr, occurring on the romanian black sea littoral. In: Gafta D, Akeroyd J(editors). Nature Conservation. Environmental Science and Engineering (Environmental Science). 1<sup>st</sup> ed. Berlin: Heidelberg; 2006; 273-80.
10. Bogdanov MG, Svinjarov I, Keremedchieva R, Sidjimov A. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in *Glaucium flavum* Cr. Separation and Purification Technology 2012; 97: 221-7.
11. Cortijo J, Villagrasa V, Pons R, Berto L, Martí-Cabrera M, Martínez-osa M, et al. Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine. In: Vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. British Journal of Pharmacology 1999; 127(7): 1641-51.
12. Cabo J, Cabo P, Jimenez J, Zarzuelo A. *Glaucium flavum* Crantz. Part v: Hypoglycemic activity of the aqueous extract. Phytotherapy Research 1988; 2(4): 198-200.
13. Kar A, Choudhary B, Bandyopadhyay N. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 2003; 84(1):105-8.
14. Prince PSM, Menon VP, Pari L. Hypoglycaemic activity of syzigium cumini seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 1998; 61(1): 1-7.
15. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia 2008; 51(2): 216-26.
16. Ojo A, Adanlawo I, Ojo O. Ameliorative potentials of Saponins from Helianthus annuus roots on hepatoprotective and some kidney function indices of alloxan-induced diabetic rats, Pharmacology Online 2016; 3(1):73-79.
17. Tawfeek HM, Roberts M, El Hamd MA, Abdellatif AAH, Younis MA. Glibenclamide mini-tablets with an enhanced pharmacokinetic and pharmacodynamic performance. AAPS PharmSciTech 2018; 19(7): 2948-60.
18. Parving HH, Hommel E, Mathiesen E, Skøtt P, Edsberg B, Bahnsen M, et al. Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes. Britain Medical Journal 1988; 296(16):156-60.
19. Thorn LM, Gordin D, Harjutsalo V, Hägg S, Masar R, Saraheimo M, et al. The Presence and Consequence of Nonalbuminuric Chronic Kidney Disease in Patients With Type 1 Diabetes. Diabetes Care 2015; 38(11): 2128-33.
20. Janghorbani M, Ghanbari H, Aminorroaya A, Amini M. Relationship between serum uric acid and incident hypertension in patients with type 2 diabetes. Review of Diabetic Studies 2017; 14(4): 354-63.
21. Gardner DG, Shoback DM. Greenspan's basic and clinical endocrinology. 10<sup>th</sup> ed. China: McGraw-Hill Education; 2017; 374-9.

22. Asadi-Samani M, Moradi M-T, 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. *Journal of Nephropathology* 2017; 6(3): 118.
23. Palmer SC, Ruospo M, Teixeira-Pinto A, Craig JC, Macaskill P, Strippoli GF. The validity of drug effects on proteinuria, albuminuria, serum creatinine, and estimated GFR as surrogate end points for ESKD: a systematic review. *American Journal of Kidney Diseases* 2018; 72(6): 779-789.
24. Wang XX, Levi J, Luo Y, Myakala K, Herman-Edelstein M, Qiu L, et al. SGLT2 expression is increased in human diabetic nephropathy: SGLT2 inhibition decreases renal lipid accumulation, inflammation and the development of nephropathy in diabetic mice. *Journal of Biological Chemistry* 2017; 292(13): 5335-48.
25. Gyurkovska V, Philipov S, Kostova N, Ivanovska N. Acetylated derivative of glaucine inhibits joint inflammation in collagenase-induced arthritis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 2015; 37(1): 56-62.
26. Gurzov EN, Stanley WJ, Pappas EG, Thomas HE, Gough DJ. The JAK/STAT pathway in obesity and diabetes. *The FEBS Journal* 2016; 283(16): 3002-15.
27. 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. *British Journal of Ophthalmology* 2015; 99(5): 629-34.
28. Panda S, Barvy K. The effect of *Anethum graveolens* L. On corticosteroid induced diabetes mellitus: involvement of thyroid hormones. *Phytotherapy Res* 2008; 22(12): 1695-7.
29. ao N, Zhao TY, Li X. The protective effect of berberine on  $\beta$ -cell lipoapoptosis. *Journal of Endocrinological Investigation* 2011; 34(2):124-30.
30. Gandomani AK, Dehkordi RAF, Heidarnejad MS. Evaluation of serum biochemical and histopathological changes in mice-diabetic kidney followed by simultaneous injection of nanoparticles of zinc oxide and thiamine. *JAUMS* 2017; 20(5):103-18. (Article in Persian)
31. Ziamajidi N, Nasiri A, Abbasalipourkabir R, Sadeghi Moheb S. Effects of garlic extract on TNF- $\alpha$  expression and oxidative stress status in the kidneys of rats with STZ+ nicotinamide-induced diabetes. *Pharmaceutical Biology* 2017; 55(1): 526-31.
32. Neag MA, Mocan A, Echeverría J, Pop RM, Bocsan CI, Crişan G, et al. Berberine: botanical occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders. *Frontiers in Pharmacology* 2018; 9: 557.
33. Shafiee A, LI Lajevardi S, Khalafi F. Alkaloids of *glaucium flavum* crantz, populations Isfahan and Kazerun. *J of Pharmaceuticals Sciences* 1977; 66(6): 873-4.

# Effect of Aqua-Ethanollic Extract of *Glaucium flavum* on Diabetic Nephropathy Parameters in Rats

Darya GH<sup>1\*</sup>, Nowruzi-Asl A<sup>2</sup>, Khoshvaghti A<sup>2</sup>, Musavi SM<sup>3</sup>, Hashemi F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Young Researcher and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran, <sup>3</sup>Department of Veterinary Medicin, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Received: 30 Dec 2018 Accepted: 17 Apr 2019

## Abstract

**Background & aim:** *Glaucium flavum* is used as an anti-diabetes herb in traditional medicine in the southern regions of Iran. Regarding the widespread secondary complications of diabetes, including nephropathy and hepatopathy. The present study was conducted to compare the effects of glacial auricularis and glibenclamide on the changes in serum levels of blood urea nitrogen, creatinine and total and direct bilirubin in alloxan-induced diabetic rats.

**Methods:** In the present experimental study, 40 adult male Wistar rats were randomly divided into five equal groups: control, diabetic control, diabetic treatment with 250 mg / kg *glaucium flavum* extract, diabetic treated with mentioned extract with daily dose of 500 mg / kg and diabetic treatment with glibenclamide at daily dose of 5 µg / kg. Groups 2 to 5 received single dose (120 mg / kg) of alloxan. After thirty days, the animals were anesthetized and blood samples were taken from the heart. Creatinine, urea nitrogen, totals and direct bilirubin were measured by enzymatic method. The obtained cultivars were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test.

**Results:** A significant differences was seen between the means of 250 treated group and diabetic control group among all four factors ( $P < 0.001$ ). Moreover, the difference of means were not significant between 500 treated group and healthy control in BUN, creatinine, total and direct bilirubin ( $P > 0.05$ ), this reduction for the drug treated group was limited to creatinine and total bilirubin.

**Conclusion:** It could be concluded that the oral administration of the aqueous extracts may help to improve the activity of liver and kidney cleansing of diabetic rats by using anti-inflammatory properties of its compounds, including glucosin, as well as the anti-oxidant effects of Berberine.

**Keywords:** Diabetes Mellitus, *Glaucium flavum*, BUN, Creatinine, Bilirubin, Rat, Alloxan

---

\*Corresponding author: Darya GH, Young Researcher and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran  
Email: Ghdarya88@gmail.com

**Please cite this article as follows:**

Darya GH, Nowruzi-Asl A, Khoshvaghti A, Musavi SM, Hashemi F. Effect of Aqua-Ethanollic Extract of *Glaucium flavum* on Diabetic Nephropathy Parameters in Rats. *Armaghane-danesh* 2019; 24(1): 214-225