Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Autumn 2020. Vol 26. Issue 4

Research Paper

Metabolic Effects of Methanol Extract of Harmal (Peganum Harmal) in Rats Fed With Normal Diet

Esmail Mollashahi[1], Hamid Reza Kazerani[1]*

1. Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Mollashahi E, Kazerani HZ. [Metabolic Effects of Methanol Extract of Harmal (Peganum harmal) in Rats Fed With Normal Diet (Persian)]. Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences". 2020; 26(4):414-431. https://doi.org/10.32598/hms.26.4.2823.1

https://doi.org/10.32598/hms.26.4.2823.1

CC BY NC

Received: 15 Dec 2019
Accepted: 24 Jun 2020
Available Online: 01 Oct 2020

Key words:
Peganum harmal , Obesity, Food intake, Thyroid hormones

ABSTRACT

Aims The research aimed to investigate the effects of harmal (Peganum harmal) seed extract on the weight and some metabolic parameters.

Methods & Materials Male rats, in groups of 7, received different doses of the methanol extract of harmal seed (100, 200, and 400 mg/kg/d body weight) or placebo via a gastric tube for 42 days. At the end of the experiment, the weights of the body, liver, spleen, and heart, and also the levels of some serum parameters, including glucose, cholesterol, triglyceride, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein, insulin, growth hormone, and thyroid hormones, as well as the composition of the carcass were investigated.

Findings The mean weight gain, food intake, and the serum level of triiodothyronine (T3) significantly declined in the rats receiving the extract at 400 mg/kg. In contrast, the serum level of cholesterol in the group increased (P<0.001). The serum levels of glucose were significantly lower in all experimental groups compared to the control. Furthermore, the groups treated with the methanol extract dose-dependently showed higher serum lactate dehydrogenase levels compared to the control (P<0.05). No significant differences were observed regarding other studied parameters compared with the control group.

Conclusion This research suggests positive effects for harmal extract on some metabolic parameters and weight. At least one of the involved mechanisms seems to be declined appetite and hence decreased feed intake.

English Version

1. Introduction

Obesity is the most important nutritional disease in developed and developing countries, which its prevalence is increasing rapidly. According to the World Health Organization (WHO), the body mass index (weight in kilograms divided by height squared in meters) of above 25 is considered as overweight and above 30 as obesity. According to the WHO report in 2016, more than 1.9 billion people over the age of 18 were overweight, of which 650 million were obese. The prevalence of obesity among children is also increasing; currently, 41 million children under the age of five are obese.

Obesity is involved in many diseases, including diabetes type II, cardiovascular disease, hypertension, metabolic

* *Corresponding Author:*
Hamid Reza Kazerani, PhD.
Address: Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
Tel: +98 (51) 38763852
E-mail: kazerani@um.ac.ir

syndrome, asthma, digestive disorders, skeletal problems, and even some types of cancer [2]. Hence, in this field, a lot of research is being done worldwide.

Harmal , scientifically named Peganum harmal , is a plant of the Zygophyllaceae family. It is herbaceous and perennial, with a height of 30 to 40 cm, and is mostly grown as a wildflower in the barren lands of North Africa, the Mediterranean region, Turkey, Syria, and Iran [3-6]. Harmal contains the alkaloids of harmaline, harmine, harmalol, harman, and paganine. This plant also contains volatile essential oil, tannins, and a glycoside flavonoid called rutoside [7].

In ancient Arab medication, harmal seed has been used as a sedative, diaphoretic, anti-worm, and causing menstruation [4, 6, 7]. Harmal seeds have also been shown to have anti-flatulence, milk-enhancing, body-warming, colic-relieving, jaundice, sciatica, insanity, Alzheimer disease and to be effective against [3, 5]. Harmal seed was known as a drug and has been prescribed as a fever reliever and stomach pain reliever [3]. According to new scientific research, it has anti-pest, anti-microbial, anti-parasitic, anti-cancer, anti-inflammatory, anti-seizure, and analgesic effects. Besides, Its cardiovascular, teratogenicity, and antioxidant properties of harmal have been proved. In traditional medicine, it was also used for weight loss.

Since, according to the scientific methodology, sufficient information about the effects of this herb on weight and serum parameters is not available, this study investigated the effect of its different doses of the methanolic extract on weight and some metabolic parameters in rats.

2. Materials and Methods

In this study, 28 male Wistar rats weighing 220±60 g were used. The rats were kept in the veterinary clinic of Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad City, Iran in the condition of 12 hours of light and 12 hours of darkness and an ambient temperature of 20°C-24°C. The animals had free access to drinking water during the experiment. Four days before the experiment and throughout the experiment, the rats were fed in separate cages (individually) with a normal diet (Khorasan Javaneh Company, Mashhad) (Table 1).

Experimental groups

The rats were randomly divided into 4 groups. The groups of 1 to 3 received 100, 200, or 400 mg of harmal methanolic extract per kg of body weight daily for 6 weeks, depending on dry matter weight. Group 4, as the control group, received only a placebo.

Studied parameters

Calculation of food intake and weight gain was performed every 7 days after starting of treatment in all rats. Also, the liver, spleen, and heart weights were assessed at the end of the experimental period. After about 10 hours of not feeding, the blood samples were taken from all rats on day 42 under anesthesia (sodium thiopental: 60 mg/kg). To separate the serum, blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 20 minutes after coagulation. The feed conversion ratio in the studied animals was calculated based on the following formula [8]:

$$\textit{Feed conversion ratio} = \frac{\textit{Dietary intake in grams}}{\textit{Increased body weight in grams}}$$

Table 1. Animal dietary nutrient composition based on the manufacturer's brochure

Combination	Value
Energy	kcal/kg 2750
Protein	21%
Fat	5.6%-7%
Raw fiber	5.5%
Methionine	0.0.5%
Lysine	0.0.5%
Salt	0.5%
Calcium to phosphorus ratio	1.5-2.5

The amount of total fat in the samples was determined using the Nafikov-Atkinson method [9]. In this experiment, fats are dissolved in chloroform and other substances are either dissolved in water and alcohol or deposited by centrifugation and then removed.

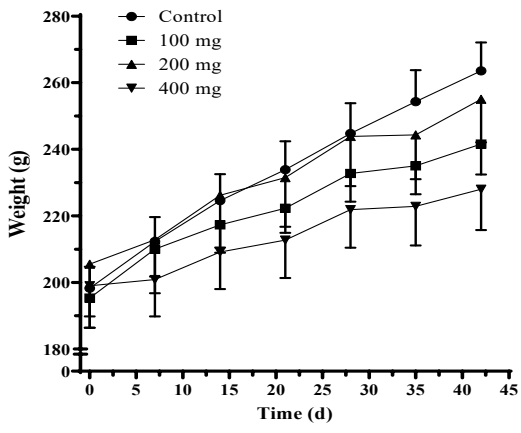
To measure muscle protein, the sample was placed in liquid nitrogen 3 times (15 minutes each) at 30-minute intervals. The sample was mixed with 10 mL of 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.5 with 0.55 M potassium iodide). After centrifugation (20 minutes, 3000 rpm) of high solution (containing protein), muscle protein was measured by Biore Method (Pars Azmoun Kit, Iran). The percentage of dry matter of muscle was evaluated by the following formula [10]

$$\text{Humidity percentage} = \frac{\text{(weight of sample and plate before placing in the oven)-(weight of sample and plate after placing in the oven)}}{\text{Sample weight}} \times 100$$

$$\text{Percentage of dry matter} = 100 - \text{Humidity percentage}$$

The percentage of muscle ash was evaluated as follows [10]:

$$\text{Percentage of ash} = \frac{\text{The weight of sample and container)-(the weight of container)}}{\text{Sample weight}} \times 100$$



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 1. Weight of the animals studied in different experimental groups; The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as the mean±standard error of the mean (Mean±SEM).

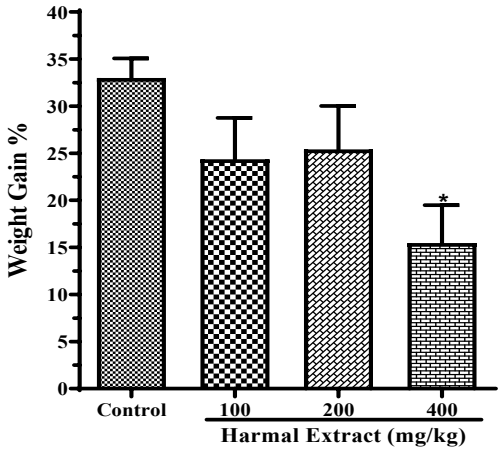
The glucose (Pars test kit, Iran), cholesterol, triglyceride (Biosystem commercial kits, Spain), and high-density lipoprotein and low-density lipoprotein of serum (Pishtaz Teb commercial kit, Iran) were measured by Autoanalyzer (BT-3000, Italy) with a calorimetric method. The hormones of insulin (DLS-1600 kit, Diasorin, Italy), growth (GH kit, Diasorin, Italy), triiodothyronine (T3), and thyroxine (T4) (Radim commercial kits, Italy) were measured with chemiluminescence method (RAD-120, Italy). Total serum protein was also measured with the Biore method (Pars Azmoun Kit, Iran).

Data analysis

Statistical calculations and the figures were performed by GraphPad Prism software (GraphPad Prism V. 5.0, GraphPad Software, USA). The normal distribution of data was checked and confirmed by the Shapiro-Wilk test and the Kolmogorov-Smirnov test. The data are expressed as Mean±standard error of the mean (Mean±SEM). Statistical comparison between different experimental groups was performed by analysis of variance (ANOVA) and Dant supplementary test. In all cases, the difference was considered significant at $P<0.05$.

3. Results

The mean body weight at the end of the 42-day experimental period was higher in the control group than the ex-



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 2. Weight of animals studied in different experimental groups; The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as the mean±standard error of the mean (Mean±SEM). The asterisk indicates a significant difference compared to the control group ($P<0.05$).

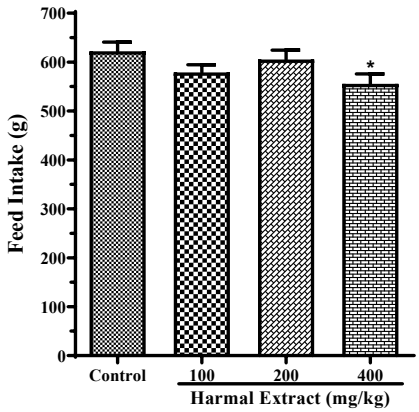


Figure 3. Rat food consumption in different experimental groups; The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as the mean±standard error of the error (Mean±SEM). The asterisk indicates a significant difference compared with the control group (P<0.05).

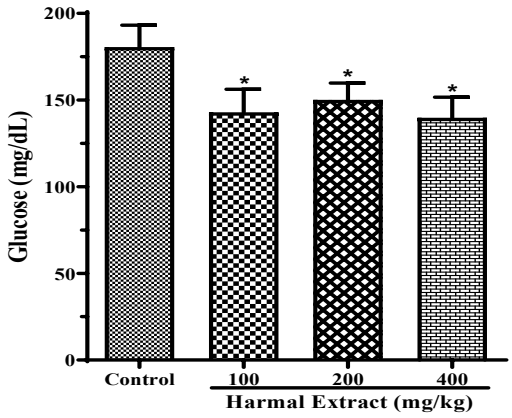


Figure 4. Blood serum glucose of animals in different experimental groups; The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as mean±standard error of the mean (Mean±SEM).

perimental groups (Figure 1). The mean body weight in the group received the highest dose of harmal extract was lower than the other groups. However, the differences between different experimental groups were not statistically significant.

The mean weight gain concerning baseline weight at the end of the 42-day of the experimental period was 33% in the control group (Figure 2). The percentage of body weight gain in the experimental groups was lower than the control group. The lowest mean was observed in the group of 400 mg/kg of extracts (15.5%, P<0.05). The average

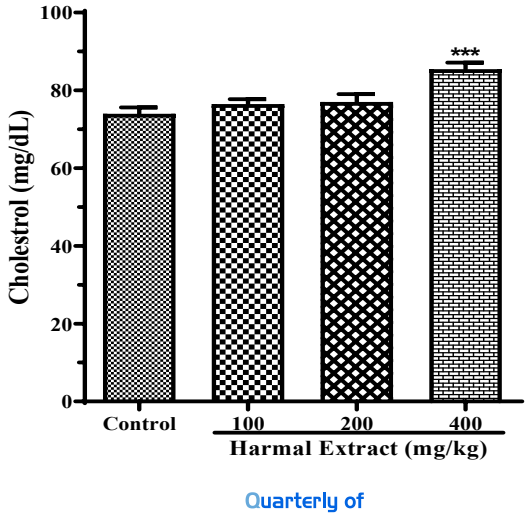


Figure 5. Blood serum cholesterol of rats in different experimental groups; The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as the mean±standard error of the mean (Mean±SEM). The asterisk indicates a significant difference compared with the control group (P<0.01).

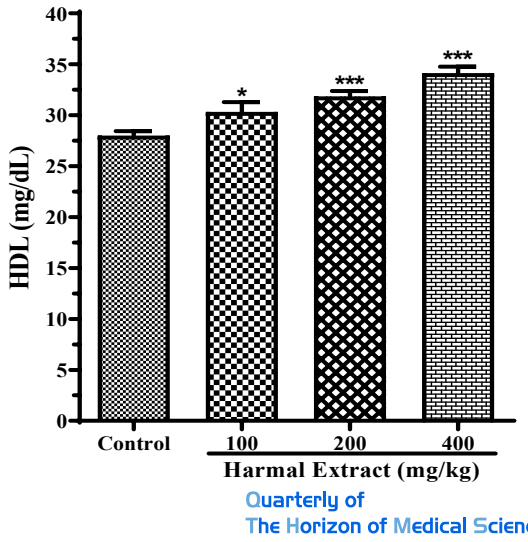


Figure 6. Blood high-density lipoprotein of the serum of the rats in different experimental groups; The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as the mean and standard error of the mean (SEM). The asterisk indicates a significant difference compared with the control group (*P<0.05, ***P<0.001).

food intake in this group was significantly lower than the control group (Figure 3); however, the mean feed conversion ratio did not differ between groups (Table 2).

Muscle characteristics such as fat percentage, protein, ash, and dry matter did not show significant differences between the experimental groups (Table 2). The percentage of body weight of internal organs, including the liver, spleen, and heart did not differ significantly between different groups (Table 2). The serum glucose level in the treatment groups was significantly lower than the control group (Figure 4). However, cholesterol and serum levels of high-density lipoprotein were higher in the treatment groups (Figures 5, 6). Other serum parameters, including triglyceride, lactate dehydrogenase, and total protein did not show significant differences between the experimental groups (Table 2).

Among the measured hormones, T3 was significantly lower in the treatment groups at doses of 200 and 400 mg/kg body weight than the control group (Figure 7). Other studied hormones, including T4, growth hormone, and insulin did not show significant differences (Table 2).

4. Discussion

Obesity is a nutritional disease that is involved in many cardiovascular, liver, joint abrasions, diabetes, and cancer diseases [11, 12]. Around 60% of people over the age of 20 in Iran are overweight and obese. Also, 12%-18% of Iranian adolescents are overweight and 6.5% of them are considered obese. Treatment of obesity reduces mortality from diabetes by 92%, cancer by 60%, coronary artery disease by 56%, and surgical death by 40% [12].

This study investigated the effect of harmal seeds on the weight and food intake in rats. Also, a series of serum biochemical parameters were primarily investigated the possible mechanisms involved. The animals that received harmal methanolic extract at a dose of 400 mg/kg showed less weight than the control group. In this regard, in another study, a significant weight loss has been reported in broilers as a result of consuming this plant [13]. In another study, however, the methanolic extract of harmal seeds at 200 and 250 mg per liter of drinking water increased the weight of broilers. Increasing the dose to 300 mg/L, however, caused

Table 2. Parameters studied in different experimental groups

Groups / Parameters	Control	Mean±SD		
		Harmal Seed Extract (mg/kg)		
		100	200	400
Food conversion ratio	19.4±1.4	30.8±7.3	29.3±6.1	32.8±5.6
Muscle fat (%)	7.1±0.7	6.8±0.5	6.1±0.8	5.8±0.6
Muscle protein (%)	15.2±1.3	14.2±1.7	13.2±1.5	12.9±0.3
Muscle ash (%)	1.86±0.37	1.45±0.12	1.66±0.21	1.51±0.21
Muscle dry matter (%)	33.3±0.7	31.2±0.6	31.4±1.1	30.8±0.5
Liver weight (%)	3.37±0.10	3.45±0.09	3.41±0.07	3.53±0.07
Spleen weight (%)	0.29±0.01	0.31±0.02	0.31±0.02	0.30±0.02
Heart weight (%)	0.36±0.01	0.40±0.03	0.31±0.05	0.38±0.01
Triglycerides (mg/dL)	52.3±1.1	53.5±2.9	53.4±2.5	51.3±1.7
LDL (mg/dL)	8.6±0.6	8.0±0.4	7.7±0.6	8.0±0.5
Total protein (g/dL)	6.4±0.1	6.7±0.2	6.5±0.2	6.7±0.2
T4 (µg/dL)	2.3±0.2	2.2±0.4	2.2±0.2	0.2±0.1
Growth hormone (ng/ml)	0.10±0.02	0.08±0.00	0.08±0.01	0.08±0.01
Insulin (µU/ml)	0.09±0.00	0.10±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00

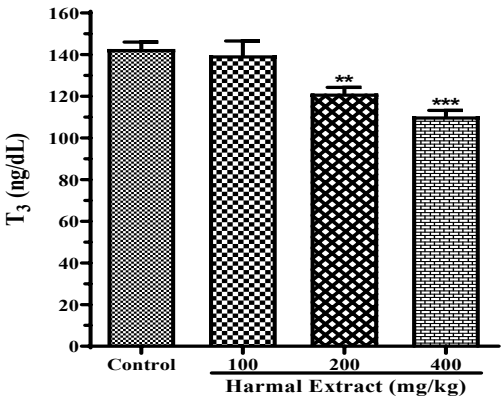


Figure 7. Serum T3 of animal blood in different experimental groups

The experimental groups received placebo (control) or different doses of methanolic extract of pecan seed through a gastric tube for 42 days. Data are expressed as the mean and standard error of the mean (SEM). The asterisk indicates a significant difference compared with the control group (*P<0.01, ***P<0.01).

a significant decrease in this variable compared with the control group [14].

In other studies, ethanolic and chloroform extracts of harmal have been reported to increase rat weight [15]. Harmine, one of the alkaloids in harmal seeds, does not affect the weight of diabetic rats [16], but 4-hydroxy pipecolic acid has reduced the weight of rats [17]. Based on this finding, perhaps the weight loss effect of harmal in the present study could be attributed to this substance.

On the other hand, in the present study, harmal methanolic extract at a dose of 400 mg/kg reduced food intake; however, in a study on broiler chickens, it did not affect chicken food intake [14]. Harmine also did not affect the amount of food consumed by diabetic rats [16]. The observed differences may be due to differences in the species under study. Considering the correlation between reduced food intake and overweight, it seems that at least one of the weight loss factors in treated rats can be considered as decreased appetite.

The feed conversion ratio was higher in the groups that received different doses of methanolic extract than the control group, but these differences were not significant. In a study performed on broiler chickens, methanolic extract of harmal seed improved feed conversion ratio [14]. Similar results have been reported with harmal seeds [13], broilers seem to show different effects on receiving a methanolic extract of harmal seed compared to rats.

In the present study, some serum parameters related to weight and appetite were also examined. Glucose levels decreased in rats that received different doses of harmal methanolic extract compared with the control group; however, no significant change was observed in the serum insulin hormone levels of the animals. But, studies by other researchers have shown that ethanolic extract of harmal seed significantly reduced blood glucose levels in the healthy and diabetic rats [18].

The 4-hydroxy pipecolic acid stimulates glucose uptake in muscle cells and reduces fasting serum glucose levels in diabetic rats. Besides, it improves glucose tolerance. It also lowers plasma insulin hormone levels and improves insulin sensitivity by increasing its ability to lower blood sugar [17]. It has been suggested that 4-hydroxy pipecolic acid causes the transfer of GLUT-4 from the inside to the surface of skeletal muscle cells and thus increases glucose consumption [19].

Harmine has also been shown to improve glucose metabolism in diabetic rats by increasing the expression of the PPARγ gene involved in adipogenesis. The metabolic effects of harmine are partly due to the inhibition of the beta-catenin molecule (β catenin) involved in the WNT signal pathway (inhibitor of differentiation and expression of the PPARγ gene) [16].

Since the serum levels of triglyceride are directly related to obesity [20], the effect of different doses of harmal methanolic extract on this parameter was also studied in the present study, and no significant change in the serum levels of triglyceride was observed in rats.

According to the results of a study, 4-hydroxy pipecolic acid significantly reduced the serum triglyceride concentration of the rats [17]. Harmine also reduced the serum levels of triglyceride in diabetic rats [16]. Given that the two compounds existing in the seeds of harmal separately reduced the triglyceride concentration, it is possible that other compounds existing in the seeds of this plant, due to their inhibitory or interfering role, neutralized the reducing effects of triglycerides in the current study.

Because of the correlation between serum cholesterol level with body metabolism and obesity [16], this serum parameter was also investigated in the present study. In this study, the amount of serum cholesterol in the group that received the highest dose (400 mg/kg of extract) was significantly higher than the control group [21]. Also, 4-hydroxy

pipecolic acid (extracted from the seeds of harmal) has reduced cholesterol concentration in the rats [17].

Differences in the studied species may cause differences in the observed results. This event may also be attributed to an increase in high-density lipoprotein and no change in low-density lipoprotein. In the present study, harmal methanolic extract had no effect on serum low-density lipoprotein levels in rats; however, 4-hydroxy pipecolic acid isolated from harmal seeds reduced low-density lipoprotein levels in rats [17]. Differences in results may be related to other compounds in harmal seeds.

In this study, serum high-density lipoprotein levels were significantly and dose-dependently increased in the groups that received harmal methanolic extract. Similar results were observed with 4-hydroxy pipecolic acid increasing the serum high-density lipoprotein concentration of Wistar rats [17]. Therefore, perhaps the enhancing effect of serum high-density lipoprotein in harmal seeds can be attributed to 4-hydroxypipecolic acid. Proteins, like carbohydrates and fatty acids, play a role in the body's metabolism and energy supply [22].

In the present study, the methanolic extract of harmal seed had no effect on serum total protein concentration. In another study, harmal leaves reduced total serum protein in chickens [21]. However, no similar study was performed on the effect of methanolic extract of harmal seed on serum protein.

Thyroid hormones increase energy consumption and weight loss by increasing metabolism; however, T3 is more active than T4 [22]. In this study, harmal extract significantly reduced T3 but had no effect on serum T4 levels. In another study, pecan seed extract reduced plasma levels of the hormones T3 and T4 in rats [23].

Harmaline (one of the alkaloids in harmal seed extract) has inhibitory properties for the enzyme monoamine oxidase. On the other hand, if this enzyme is inhibited, the levels of catecholamine neurotransmitters (dopamine, norepinephrine, and epinephrine) and indoleamine (serotonin) increase. Because serotonin is a neurotransmitter that inhibits the secretion of thyrotropin-releasing hormone, inhibition of this enzyme can reduce the level of thyroid-stimulating hormone in plasma, followed by a decrease in T3 and T4 [24]. It seems that the weight loss observed in this study is not only due to the increase in thyroid hormones, but also these hormones decreased due to the consumption of harmal extract.

Growth hormone stimulates the growth of various tissues in the body, especially the growth of bones. It also increases metabolism by 15%-20% [22]. Growth hormone levels are lower in obese people [25]. There was no scientific report on the effect of this herb on plasma growth hormone levels. According to the present study, no change in serum growth hormone levels was observed.

In the present study, the mean percentage of heart weight was examined; there was no change in the mean heart weight of the rats. Also, the mean weight percentages of liver and spleen in rats that received different doses of methanolic extract of harmal were not different from the control group. No similar research was conducted on the effect of this herb on the percentages of heart, liver, and spleen weight.

5. Conclusions

In the present study, the effect of different doses of methanolic extract of harmal seed for 42 days on weight, appetite, and some serum parameters of growing rats was investigated. The methanolic extract significantly prevented the overweight of the studied animals. This effect was not associated with the changes in insulin and growth hormone. On the other hand, T3 hormone was not only not increased but also significantly decreased in rats treated with the extract. Since food intake in treated rats was significantly reduced, it seems that the methanolic extract of harmal seed, at least as one of the mechanisms involved, prevents weight gain in rats by reducing appetite.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This research has been done according to the rules and regulations of the Ethics Committee of Ferdowsi University of Mashhad. The bioethics and animal rights of the studied animals have been considered (Ethics Code: IR.UM.REC.1398.117).

Funding

This study was conducted with the financial support of the Vice Chancellor for Research, Ferdowsi University of Mashhad (Research No. 20071/3).

Authors' contributions

Conceptualization, Funding acquisition, Resources, Supervision: Hamid Reza Kazerani; Methodology, Investigation,

Writing – original draft, Writing – review & editing: Both authors.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

Hereby we thank the Vice Chancellor for Research of Ferdowsi University of Mashhad (20071/3).

This Page Intentionally Left Blank

اثرات متابولیک عصاره متانولی اسپند در رت‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی معمولی

اسماعیل ملاشاهی[۱]، *حمیدرضا کازرانی[۱]

۱.گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۲۴ آذر ۱۳۹۸
تاریخ پذیرش: ۰۴ تیر ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۰ مهر ۱۳۹۹

چکیده

اهداف هدف از این پژوهش بررسی تأثیر عصاره دانه اسپند بر وزن و برخی فراسنجه‌های متابولیک بود.

مواد و روش‌ها رت‌های نر در گروه‌های هفت‌تایی توسط لوله معدی، به مدت ۴۲ روز، روزانه دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه اسپند (۱۰۰، ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و یا دارونما دریافت کردند. در پایان دوره، وزن بدن، کبد، طحال و قلب به همراه برخی فراسنجه‌های سرمی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، HDL، LDL، انسولین، هورمون رشد و هورمون‌های تیروئیدی و همچنین کیفیت لاشه بررسی شد.

یافته‌ها میانگین افزایش وزن، میزان مصرف غذا و سطح سرمی هورمون T3 در رت هایی که دُز 400 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن عصاره را دریافت کرده بودند به طور معنی‌داری کاهش یافت. در مقابل، میزان کلسترول سرم در گروه یادشده افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). گلوکز سرم در تمامی گروه‌های تیمارشده به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود. همچنین HDL سرم در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده عصاره متانولی در مقایسه با گروه کنترل به صورت وابسته به دُز افزایش یافت (P<۰/۰۵). در سایر فراسنجه‌های موردمطالعه اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری این پژوهش اثرات مفیدی برای عصاره اسپند روی برخی پارامترهای متابولیک و وزن پیشنهاد می‌کند. به نظر می‌رسد حداقل یکی از مکانیسم‌های مؤثر در این رابطه کاهش اشتها و درنتیجه کاهش مصرف غذا باشد.

کلیدواژه‌ها:
اسپند، چاقی، مصرف غذا، فراسنجه‌های سرمی، هورمون‌های تیروئیدی

مقدمه

چاقی مهم‌ترین بیماری تغذیه‌ای در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه است که با سرعت قابل ملاحظه‌ای در حال افزایش است. بر اساس تعریف سازمان بهداشت جهانی (WHO)[۱]، شاخص توده بدنی (وزن بر حسب کیلوگرم تقسیم بر مجذور قد بر حسب متر) بالاتر از ۲۵ اضافه‌وزن و بالاتر از ۳۰ چاقی تلقی می‌شود. بر اساس گزارش سازمان مذکور در سال ۲۰۱۶، بیش از ۱/۹ میلیارد نفر از افراد بالای ۱۸ سال، اضافه‌وزن داشته‌اند و از این تعداد، ۶۵۰ میلیون نفر چاق بوده‌اند. شیوع چاقی در بین کودکان نیز در حال افزایش است و در حال حاضر ۴۱ میلیون کودک زیر سن پنج سال چاق هستند [1]. چاقی در بروز بسیاری از بیماری‌ها و از جمله دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی‌عروقی، فشار خون، سندرم متابولیک، آسم، اختلالات گوارشی، مشکلات اسکلتی و حتی برخی از انواع سرطان نقش دارد [۲]. از این رو پژوهش‌های زیادی در سطح دنیا در این زمینه در حال انجام است.

اسپند با نام علمی Peganum harmal گیاهی است از خانواده Zygophyllaceae، علفی و چندساله یا پایا که ارتفاع آن بین ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر است و بیشتر به صورت خودرو در اراضی بایر شمال آفریقا، منطقه مدیترانه، ترکیه، سوریه و ایران می‌روید [۶-۳]. گیاه اسپند دارای آلکالوئیدهای هارمالین، هارمین، هارمالول، هارمان و پگانین (وازی سین) است. همچنین این گیاه حاوی اسانس فرار، تانن و فلاونوئید گلیکوزیدی به نام روتوزید است [۷].

دانه گیاه اسپند در طب قدیم اعراب، به عنوان خواب‌آور، معرق، ضد کرم و قاعده‌آور مصرف می‌شده است [۴، ۶، ۷]. همچنین برای دانه اسپند خاصیت بادشکن، زیادکننده شیر، گرم‌کننده بدن، رفع قولنج، استسقا، یرقان، سیاتیک، جنون و فراموشی قائل بوده‌اند [۳، ۵]. دانه اسپند مخدر معرفی شده و به عنوان تب‌بر و برای کاهش درد معده تجویز می‌شده است [۳]. بر اساس تحقیقات علمی جدید، گیاه اسپند دارای اثرات ضدآفت، ضد میکروب، ضدانگل، ضدسرطان، ضدالتهاب، ضدتشنج و ضددرد است. علاوه بر این، اثرات اسپند بر قلب و عروق، ناقص‌الخلقه‌زایی (تراتوژن) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن مشخص شده است. در

1. World Health Organization

* نویسنده مسئول:
حمید رضا کازرانی
نشانی: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه.
تلفن: ۳۸۷۶۳۸۵۲ (۵۱) ۹۸+
پست الکترونیکی: kazerani@um.ac.ir

جدول ۱. ترکیب مواد مغذی جیره حیوانات بر اساس بروشور شرکت تولیدکننده

ترکیب	مقدار
انرژی	۲۷۵۰ کیلوکالری بر کیلوگرم
پروتئین	۲۱
چربی	۶/۵–۷
فیبر خام	۵/۵
متیونین	۰/۰۵
لیزین	۰/۰۵
نمک	۰/۵
نسبت کلسیم به فسفر	۱/۵–۲/۵

افق دانش

طب سنتی، اسپند را به منظور لاغری مورد استفاده قرار می‌دادند. با توجه به اینکه بر اساس متدولوژی علمی اطلاعات کافی مبنی بر اثرات این گیاه دارویی بر وزن و فراسنجه‌های سرمی در دسترس نیست، این پژوهش، به بررسی تأثیر دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه اسپند بر وزن و برخی شاخص‌های متابولیک در رت پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از ۲۸ سر رت نر نژاد ویستار به وزن ۶۰±۲۲۰ گرم استفاده شد. رت‌ها در کلینیک دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شدند. شرایط نگهداری شامل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای محیط ۲۴-۲۰ درجه بود. حیوانات طی دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب آشامیدنی داشتند. از ۵ روز قبل از شروع آزمایش و در تمام طول دوره آزمایش رت‌ها در قفس‌های جداگانه (به صورت انفرادی) با جیره غذایی معمولی (شرکت جوانه خراسان، مشهد) مورد تغذیه قرار گرفتند (جدول شماره ۱).

گروه‌های آزمایشی

رت‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه تقسیم شدند. گروه‌های یک تا سه به ترتیب، بر اساس وزن ماده خشک ۱۰۰، ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، عصاره متانولی اسپند را روزانه به مدت شش هفته دریافت کردند. به گروه چهار به عنوان گروه کنترل، فقط دارونما خورانده شد.

فراسنجه‌های مورد مطالعه

محاسبه غذای مورد مصرف و وزن‌گیری هر هفت روز بعد از شروع درمان در کلیه رت‌ها انجام شد. همچنین وزن کبد، طحال و قلب نیز در پایان دوره آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. پس از حدود ده ساعت محرومیت از غذا در روز ۴۲ از همه رت‌ها تحت بیهوشی (تیوپنتال سدیم: ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) خون‌گیری انجام شد. جهت جداسازی سرم، نمونه‌های خون پس از لخته شدن به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند.

ضریب تبدیل غذایی در حیوانات موردمطالعه بر اساس فرمول شماره ۱ محاسبه شد [۸].

۱.

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{جیره دریافتی برحسب گرم}}{\text{افزایش وزن بدن برحسب گرم}}$$

میزان چربی تام موجود در نمونه‌ها با استفاده از روش Nafikov-Atkinson تعیین شد [۹]. در این آزمایش، چربی‌ها در کلروفرم حل می‌شوند و سایر مواد یا در آب و الکل حل شده یا توسط سانتریفیوژ رسوب کرده و خارج می‌شوند.

جهت سنجش پروتئین عضله، نمونه سه نوبت (هر بار ۱۵ دقیقه) با فواصل ۳۰ دقیقه در داخل نیتروژن مایع قرار گرفت. نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر بافر ۰/۰۵ مولار پتاسیم فسفات (pH ۷/۵ با ۰/۵۵ مولار یدور پتاسیم) مخلوط شد. پس از سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه، ۳۰۰۰ دور در دقیقه) محلول بالا (حاوی پروتئین)، پروتئین عضله به روش بیوره (کیت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

درصد ماده خشک عضله توسط فرمول شماره ۲ محاسبه شد [۱۰].

۲.

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{\text{وزن نمونه پس از فور- وزن نمونه قبل از فورر}}{\text{وزن نمونه}} \times ۱۰۰$$

درصد رطوبت-۱۰۰=درصد ماده خشک

درصد خاکستر عضله با فرمول شماره ۳ زیر محاسبه شد [۱۰].

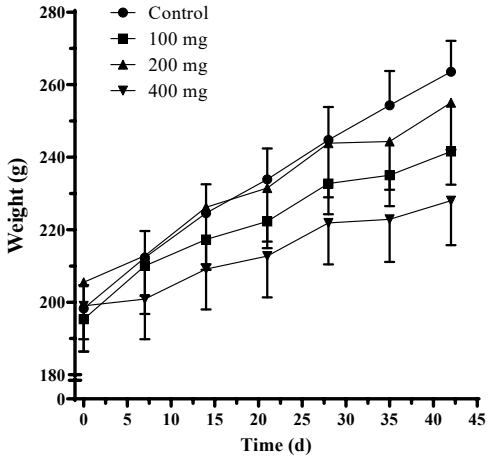
۳.

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{\text{وزن بوته خالی - وزن نمونه و بوته پس از کوره}}{\text{وزن نمونه}} \times ۱۰۰$$

سنجش گلوکز (کیت پارس‌آزمون، ایران)، کلسترول، تری‌گلیسیرید (کیت‌های تجاری بیوسیستم، اسپانیا)، HDL و LDL (کیت تجاری پیشتاز طب، ایران) سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (BT-3000، ایتالیا) به روش کالریمتری انجام شد. هورمون‌های انسولین (کیت Diasorin، DLS-1600، ایتالیا)، رشد (کیت Diasorin، GH، ایتالیا)، T3 و T4 (کیت‌های تجاری Radim، ایتالیا) به روش کمولومینوسانس (RAD-۱۲۰، ایتالیا) سنجیده شدند. همچنین پروتئین تام سرم به روش بیوره (کیت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

آنالیز داده‌ها

محاسبات آماری و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار گراف‌پدپریزم (GraphPad Software, USA ,GraphPad Prism v۵/۰) انجام شد. توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون شاپیرو ویلک و آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی و تأیید شد. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار بیان شده‌اند. مقایسه آماری بین گروه‌های آزمایشی مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس و آزمون تکمیلی دانت صورت گرفت. در تمامی موارد اختلاف با $P<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد.



افق دانش

تصویر ۱. وزن حیوانات موردمطالعه در گروه‌های مختلف آزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) و یا دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (SEM) بیان شده‌اند.

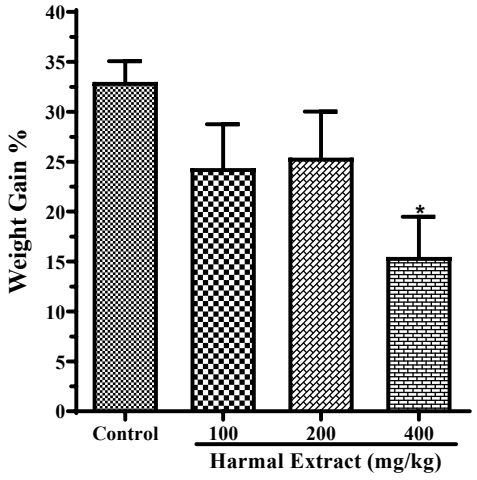
یافته‌ها

میانگین وزن بدن در پایان دوره ۴۲روزه آزمایش در گروه کنترل از گروههای آزمایش بالاتر بود (تصویر شماره ۱). میانگین وزن بدن در گروهی که بالاترین دُز عصاره اسپند را دریافت کرده بود از سایر گروه‌ها کمتر بود. با این حال اختلاف بین گروههای مختلف آزمایش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

میانگین افزایش وزن بدن نسبت به وزن اولیه در پایان دوره ۴۲روزه آزمایش در گروه کنترل ۳۳ درصد بود (تصویر شماره ۲). درصد افزایش وزن بدن در گروه‌های آزمایش کمتر از گروه کنترل بود. کمترین میانگین در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره مشاهده شد (۱۵/۵ درصد، $P<۰/۰۵$). میانگین مصرف غذا نیز در این گروه به طور معنی‌داری از گروه کنترل کمتر بود (تصویر شماره۳). با اینحال میانگین ضریب تبدیل غذایی بین گروه‌ها تفاوت نداشت (جدول شماره ۲).

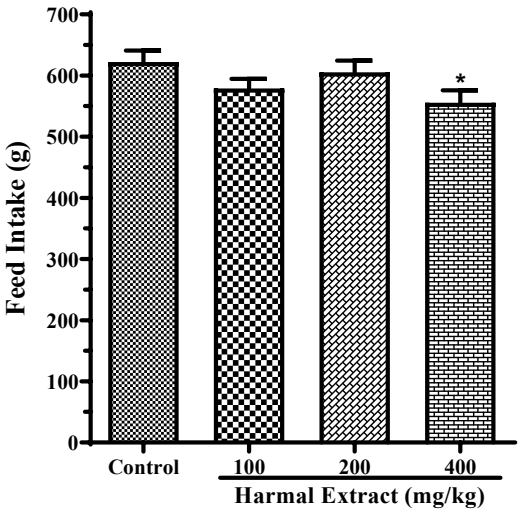
ویژگی‌های عضله نظیر درصد چربی، پروتئین، خاکستر و ماده خشک آن تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد آزمایش نداشت (جدول شماره ۲). درصد وزن اندام‌های داخلی بدن شامل کبد، طحال و قلب نیز بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول شماره ۲).

میزان گلوکز سرم در گروه‌های تیمار به طور معنی‌داری از گروه کنترل کمتر بود (تصویر شماره ۴). با این حال میزان کلسترول و HDL سرم در گروه‌های تیمار بالاتر بود (تصویرهای شماره ۵ و ۶).



افق دانش

تصویر ۲. افزایش وزن حیوانات در گروه‌های مختلف آزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) و یا دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (MES) بیان شده‌اند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل است ($P<۰/۰۵$).

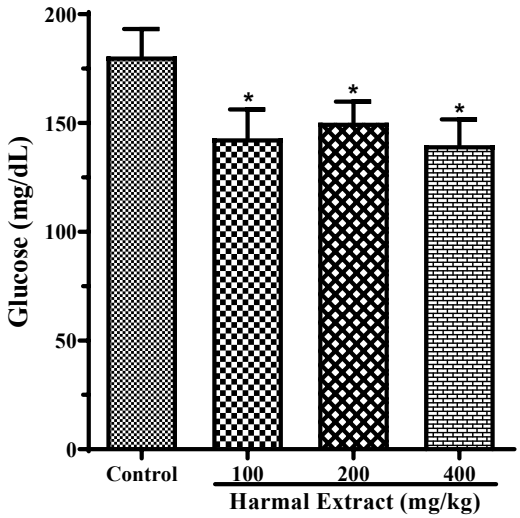


افق دانش

تصویر ۳. مصرف غذای رت در گروه‌های مختلف موردآزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) و یا دُزهای مختلف، عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (SEM) بیان شده‌اند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل است (P<۰/۰۵).

در سایر فراسنجه‌های سرمی شامل تری‌گلیسیرید، LDL و پروتئین تام تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های موردآزمایش نبود (جدول شماره ۲).

در میان هورمون‌های اندازه‌گیری‌شده، وزن هورمون T3 در گروه‌های تیمار با دُزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، به

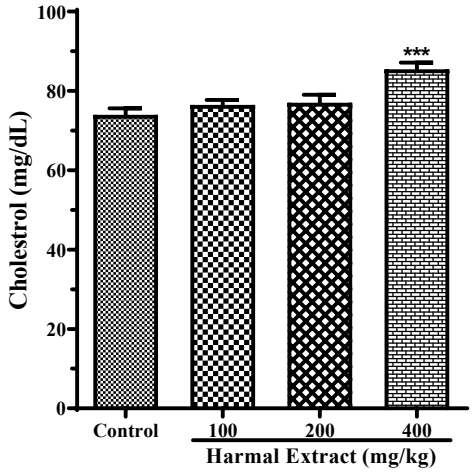


افق دانش

تصویر ۴. گلوکز سرم خون حیوانات در گروه‌های مختلف آزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) و یا دوزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (SEM) بیان شده‌اند.

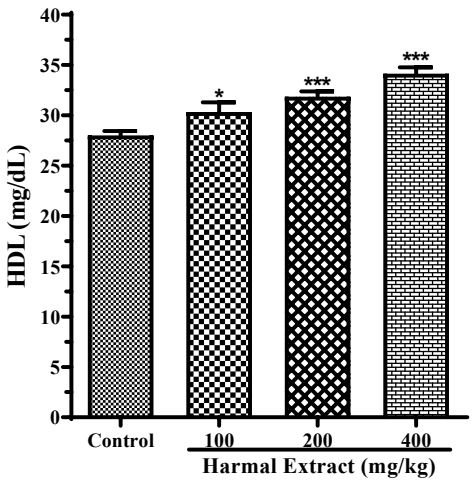
طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود (تصویر شماره ۷). سایر هورمون‌های موردمطالعه شامل T4، هورمون رشد و انسولین تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (جدول شماره ۲).

بحث



افق دانش

تصویر ۵. کلسترول سرم خون رت‌ها در گروه‌های مختلف آزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) و یا دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (SEM) بیان شده‌اند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل است (P<۰/۰۰۱).



افق دانش

تصویر ۶. LDH سرم خون رت‌ها در گروه‌های مختلف آزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) و یا دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (MES) بیان شده‌اند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل است (*:P<۰/۰۵، ***:P<۰/۰۰۱).

جدول ۲. پارامترهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف مورد آزمایش

پارامتر/ گروه	میانگین±انحراف معیار			
	کنترل	عصاره دانه اسپند (mg/kg)		
		۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰
ضریب تبدیل غذایی	۱۹/۴±۱/۴	۳۰/۸±۷/۳	۲۹/۳±۶/۱	۳۲/۸±۵/۶
چربی عضله (درصد)	۷/۱±۰/۷	۶/۸±۰/۵	۶/۱±۰/۸	۵/۸±۰/۶
پروتئین عضله (درصد)	۱۵/۲±۱/۳	۱۴/۲±۱/۷	۱۳/۲±۱/۵	۱۲/۹±۳/۰
خاکستر عضله (درصد)	۱/۸۶±۰/۳۷	۱/۴۵±۰/۱۲	۱/۶۶±۰/۲۱	۱/۵۱±۰/۲۱
ماده خشک عضله (درصد)	۳۳/۳±۰/۷	۳۱/۲±۰/۶	۳۱/۴±۱/۱	۳۰/۸±۰/۵
وزن کبد (درصد)	۳/۳۷±۰/۱۰	۳/۴۵±۰/۰۹	۳/۴۱±۰/۰۷	۳/۵۳±۰/۰۷
وزن طحال (درصد)	۰/۲۹±۰/۰۱	۰/۳۱±۰/۰۲	۰/۳۱±۰/۰۲	۰/۳۰±۰/۰۲
وزن قلب (درصد)	۰/۳۶±۰/۰۱	۰/۴۰±۰/۰۳	۰/۳۱±۰/۰۵	۰/۳۸±۰/۰۱
تری‌گلیسیرید (mg/dL)	۵۲/۳±۱/۱	۵۳/۵±۲/۹	۵۳/۴±۲/۵	۵۱/۳±۱/۷
LDL (mg/dL)	۸/۶±۰/۶	۸/۰±۰/۴	۷/۷±۰/۶	۸/۰±۰/۵
پروتئین تام (g/dL)	۶/۴±۰/۱	۶/۷±۰/۲	۶/۵±۰/۲	۶/۷±۰/۲
T۴ (µg/dL)	۲/۳±۰/۲	۲/۲±۰/۴	۲/۲±۰/۲	۲/۰±۰/۱
هورمون رشد (ng/ml)	۰/۱۰±۰/۰۲	۰/۰۸±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۱	۰/۰۸±۰/۰۱
انسولین (µU/ml)	۰/۰۹±۰/۰۰	۰/۱۰±۰/۰۰	۰/۰۹±۰/۰۰	۰/۰۹±۰/۰۰

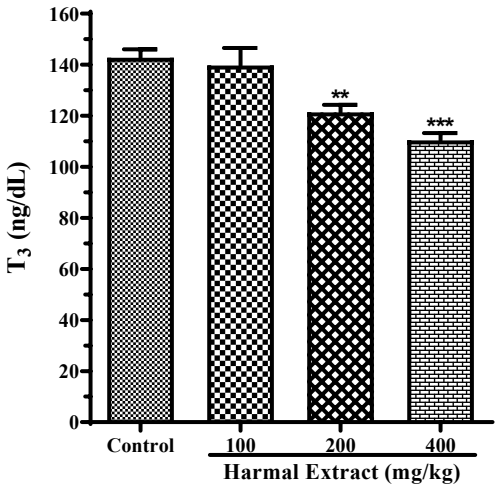
افق دانش

چاقی، نوعی بیماری تغذیه‌ای است که در ایجاد بسیاری از بیماری‌های قلبی‌عروقی، امراض کبدی، ساییدگی مفاصل، دیابت و سرطان نقش دارد [۱۱، ۱۲]. ۶۰ درصد از افراد بالای ۲۰ سال در ایران دچار اضافه‌وزن و چاقی هستند. همچنین ۱۲ تا ۱۸ درصد از نوجوانان ایرانی اضافه‌وزن داشته و ۶/۵ درصد از آن‌ها چاق محسوب می‌شوند. درمان چاقی موجب کاهش مرگ‌ومیر ناشی از دیابت به میزان ۹۲ درصد، سرطان به میزان ۶۰ درصد، بیماری شریان کرونر ۵۶ درصد و مرگ ناشی از جراحی به میزان ۴۰ درصد می‌شود [۱۲].

این پژوهش، به بررسی تأثیر دانه گیاه اسپند بر وزن و مصرف غذا در رت پرداخت. همچنین جهت بررسی مقدماتی مکانیسم‌های دخیل احتمالی، یکسری فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم نیز مورد مطالعه قرار گرفتند.

در پژوهش حاضر، حیواناتی که عصاره متانولی اسپند را با دُز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند، اضافه‌وزن کمتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند. در همین راستا طی مطالعه‌ای دیگر کاهش وزن قابل توجهی در جوجه‌های گوشتی در اثر مصرف این گیاه گزارش شده است [۱۳]. این در حالی است که در پژوهشی دیگر، عصاره متانولی دانه گیاه اسپند به میزان ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در هر لیتر آب آشامیدنی موجب افزایش وزن جوجه‌های گوشتی شده است. البته افزایش دِز به ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، موجب کاهش معنی‌دار این متغیر در مقایسه با گروه کنترل شد [۱۴]. در سایر مطالعات، گزارش شده که عصاره‌های اتانولی و کلروفرمی گیاه اسپند موجب افزایش وزن رت شده‌اند [۱۵]. با اینحال هارمین، یکی از آلکالوئیدهای موجود در دانه گیاه اسپند، بر روی وزن موش‌های دیابتی بی تأثیر بوده است [۱۶]، ولی ۴- هیدروکسی پاپیکولیک اسید موجب کاهش وزن موش‌ها شده است [۱۷]. بر این اساس شاید اثر کاهنده وزن گیاه اسپند در مطالعه حاضر را بتوان به ماده اخیر نسبت داد.

در پژوهش حاضر، عصاره متانولی اسپند با دُز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش مصرف غذا شد. این در حالی است که در مطالعه‌ای که روی جوجه‌های گوشتی صورت پذیرفته، عصاره متانولی اسپند بر مقدار مصرف غذای جوجه بی‌تأثیر بوده است [۱۴]. هارمین نیز بر مقدار مصرف غذای موش‌های دیابتی تأثیری نداشته است [۱۶]. تفاوت موردمشاهده می‌تواند به دلیل تفاوت در گونه مورد مطالعه باشد. در پژوهش حاضر، با توجه به



افق دانش

تصویر ۷. هورمون T3 سرم خون حیوانات در گروه‌های مختلف آزمایش. گروه‌های آزمایشی، دارونما (کنترل) یا دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند را از طریق لوله معدی به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار (SEM) بیان شده‌اند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل است (**: P<۰/۱۰۰، ***: P<۰/۱۰۰).

هم‌خوانی کاهش مقدار مصرف غذا با میزان اضافه‌وزن، به نظر می‌رسد بتوان لااقل یکی از عوامل کاهش وزن در موش‌های تحت درمان را کاهش اشتها محسوب کرد.

ضریب تبدیل غذایی در گروه‌هایی که دوزهای مختلف عصاره متانولی را دریافت کرده بودند، بیشتر از گروه شاهد بود، ولی این اختلافات معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای که روی جوجه‌های گوشتی انجام شد، عصاره متانولی دانه اسپند موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی شد [۱۴]. نتایج مشابهی نیز با دانه اسپند گزارش شده است [۱۳]. به نظر می‌رسد جوجه‌های گوشتی، اثرات متفاوتی نسبت به دریافت عصاره متانولی دانه گیاه اسپند در مقایسه با رت نشان می‌دهند.

در مطالعه حاضر، دُزهای مختلف عصاره اسپند تأثیر معنی‌داری بر درصد چربی، پروتئین، خاکستر و ماده خشک عضله موش‌های مورد مطالعه نداشت. در همین راستا گزارش شده هارمین بر درصد چربی عضله موش‌های دیابتی بی‌تأثیر بوده است [۱۶]. با این حال در رابطه با سایر متغیرهای یادشده، گزارش مشابهی مشاهده نشد.

در پژوهش حاضر، برخی فراسنجه‌های سرمی مرتبط با وزن و اشتها نیز مورد بررسی قرار گرفتند. در مطالعه حاضر، میزان گلوکز خون در رت‌هایی که دُزهای مختلف عصاره متانولی اسپند دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. با این حال، تغییر معنی‌داری در سطح هورمون انسولین سرم خون حیوانات مشاهده نشد. در مطالعات سایر محققین نشان داده شده که عصاره اتانولی دانه گیاه اسپند به طور قابل توجهی سطح گلوکز خون را در رت‌های سالم و دیابتی کاهش داده است [۱۸]. ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید مصرف گلوکز را در سلول‌های ماهیچه‌ای تحریک کرده و سطح گلوکز سرم در حالت ناشتا را در موش‌های دیابتی کاهش داده است. به علاوه، این ماده قدرت تحمل گلوکز را نیز بهبود بخشیده است. همچنین، این ماده غلظت هورمون انسولین پلاسما را کاهش داده و با افزایش توانایی انسولین در کاهش قند خون، حساسیت به انسولین را بهبود بخشیده است [۱۷]. پیشنهاد شده که ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید موجب جابه‌جایی GLUT-4 از داخل به سطح سلول‌های ماهیچه اسکلتی و در نتیجه افزایش مصرف گلوکز می‌شود [۱۹]. همچنین نشان داده شده که هارمین از طریق افزایش بیان ژن PPARγ که در آدیپوژنز نقش دارد، متابولیسم گلوکز را در موش‌های دیابتی بهبود می‌بخشد. اثرات متابولیک هارمین تا حدودی به واسطه مهار مولکول بتا کاتنین (β catenin) دخیل در مسیر سیگنالی WNT (مهارکننده تمایز و بیان ژن PPARγ) است[۱۶].

از آنجا که میزان تری‌گلیسیرید سرم با چاقی ارتباط مستقیم دارد [۲۰]. تأثیر دُزهای مختلف عصاره متانولی اسپند بر این فراسنجه نیز در پژوهش جاری مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش، تغییر معنی‌داری در میزان تری گلیسیرید سرم خون موش‌ها مشاهده نشد. بر اساس نتایج حاصل از یک پژوهش، ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید موجب کاهش قابل توجه غلظت تری‌گلیسیرید سرم خون موش سوری شده است [۱۷]. همچنین هارمین مقدار تری‌گلیسیرید سرم را در موش دیابتی کاهش داده است [۱۶]. با توجه به اینکه دو ترکیب موجود در دانه گیاه اسپند به صورت جداگانه موجب کاهش غلظت تری‌گلیسیرید شده‌اند، این احتمال وجود دارد که سایر ترکیبات موجود در دانه این گیاه، به خاطر نقش مهاری یا تداخلی، اثرات کاهنده تری‌گلیسیرید را در پژوهش جاری خنثی کرده باشند.

با توجه به همبستگی میزان کلسترول سرم با متابولیسم بدن و چاقی [۱۶]، این فراسنجه سرمی نیز در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش، مقدار کلسترول سرم خون در گروهی که بیشترین دُز (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عصاره را دریافت کرده بودند به طور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود. این در حالی است که بر اساس گزارش‌های موجود، برگ گیاه اسپند کلسترول سرم را در جوجه کاهش داده است [۲۱]. همچنین ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید (استخراج‌شده از دانه گیاه اسپند) موجب کاهش غلظت کلسترول در موش سوری شده است [۱۷]. تفاوت در گونه موردمطالعه ممکن است اختلاف در نتایج موردمشاهده را توجیه کند. همچنین ممکن است بتوان این رخداد را به افزایش HDL و عدم تغییر LDL نسبت داد.

در پژوهش حاضر، عصاره متانولی اسپند بر میزان LDL سرم خون رت تأثیر نداشت. این در حالی است که ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید جداشده از دانه گیاه اسپند مقدار LDL را در موش سوری کاهش داد [۱۷]. اختلاف در نتایج می‌تواند به سایر ترکیبات موجود در دانه گیاه اسپند مربوط باشد.

در این پژوهش، مقدار HDL سرم در گروه‌هایی که عصاره متانولی اسپند دریافت کرده بودند، به صورت وابسته به دُز و معنی‌داری افزایش یافت. نتایج مشابهی با ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید موجب افزایش غلظت HDL سرم موش سوری شد [۱۷]. بنابراین شاید اثر افزاینده HDL سرم در دانه اسپند را بتوان به ۴-هیدروکسی پاپیکولیک اسید نسبت داد.

پروتئین‌ها، همانند کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب در متابولیسم بدن و در تأمین انرژی بدن نقش دارند [۲۲]. در پژوهش حاضر، عصاره متانولی دانه اسپند تأثیری بر غلظت پروتئین تام سرم خون نداشت. در پژوهشی دیگر، برگ گیاه اسپند، مقدار پروتئین تام سرم را در جوجه کاهش داده است [۲۱]. با این حال در رابطه با تأثیر عصاره متانولی دانه گیاه اسپند بر پروتئین سرم، پژوهش مشابه دیگری مشاهده نشد.

هورمون‌های تیروئیدی شامل تری یدوتیرونین (T3) و تیروکسین (T4) از طریق افزایش متابولیسم، موجب افزایش مصرف انرژی و کاهش وزن بدن می‌شوند. البته تری یدوتیرونین نسبت به تیروکسین فعال‌تر است [۲۲]. در این مطالعه، عصاره اسپند موجب کاهش معنی‌دار T3 شد، ولی روی سطوح سرمی T4 بی‌تأثیر بود. در پژوهشی دیگر، عصاره دانه گیاه اسپند سطوح پلاسمایی هورمون‌های تری یدوتیرونین و تیروکسین را در رت کاهش داده است [۲۳]. هارمالین (یکی از آلکالوئیدهای موجود در عصاره دانه گیاه اسپند) دارای خاصیت مهارکنندگی برای آنزیم مونوآمینواکسیداز است. از طرفی در صورت مهار این آنزیم، سطوح نوروترانسمیترهای کاتکول آمینی (دوپامین، نوراپی نفرین و اپی نفرین) و ایندول آمینی (سروتونین) افزایش می‌یابد. از آنجا که سروتونین به عنوان یک نوروترانسمیتر بازدارنده در ترشح هورمون آزادکننده تیروتروپین به شمار می‌رود، مهار آنزیم مذکور می‌تواند موجب کاهش سطح هورمون محرک تیروئید در پلاسما و به دنبال آن کاهش هورمون‌های تیروکسین و تری یدوتیرونین شود [۲۴]. به نظر می‌رسد کاهش وزن مشاهده‌شده در این پژوهش، نه‌تنها به علت افزایش هورمون‌های تیروئیدی نیست، بلکه این هورمون‌ها در اثر مصرف عصاره اسپند کاهش یافته‌اند.

هورمون رشد، موجب افزایش رشد بافت‌های مختلف بدن، به خصوص رشد استخوان‌ها می‌شود. همچنین این هورمون، میزان متابولیسم را ۱۵ تا ۲۰ درصد افزایش می‌دهد [۲۲]. میزان هورمون رشد در افراد چاق کمتر است [۲۵]. هیچ گزارش علمی‌ای مبنی بر مطالعه اثر این گیاه دارویی بر سطح هورمون رشد پلاسما مشاهده نشد. بر اساس مطالعه حاضر، تغییری در میزان هورمون رشد سرم خون مشاهده نشد.

در پژوهش حاضر، میانگین درصد وزن قلب مورد بررسی قرار گرفت که طی آن تغییری در میانگین درصد وزن قلب موش‌ها مشاهده نشد. همچنین، میانگین درصد وزن کبد و طحال در موش‌هایی که دُزهای مختلف عصاره متانولی اسپند دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل اختلافی نداشت. در رابطه با تأثیر این گیاه دارویی بر درصد وزن قلب، کبد و طحال پژوهش مشابهی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، تأثیر دُزهای مختلف عصاره متانولی دانه گیاه اسپند به مدت ۴۲ روز بر شاخص‌های وزن، اشتها و برخی فراسنجه‌های سرمی خون رت‌های در حال رشد مورد بررسی قرار گرفت. عصاره متانولی، به طور معنی‌داری مانع از اضافه‌وزن حیوانات موردمطالعه شد. این تأثیر با تغییر انسولین و هورمون رشد همراه نبود. از طرفی هورمون تری یدوتیرونین نه‌تنها افزایش نیافته بود، بلکه به طور معنی‌داری در موش‌های تحت تیمار با عصاره، کاهش یافت. از آنجا که میزان مصرف غذا در موش‌های تحت درمان به طور معنی‌داری کاهش یافته بود، به نظر می‌رسد عصاره متانولی دانه گیاه اسپند، لاقل به عنوان یکی از مکانیسم‌های دخیل، از طریق کاهش اشتها موجب پیشگیری از افزایش وزن در رت می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش بر اساس مقررات و قوانین کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده و اخلاق زیستی و حقوق حیوانات مورد مطالعه لحاظ شده است (کد اخلاق: IR.UM.REC.1398.117).

حامی مالی

این مطالعه با کمک مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردووسی مشهد انجام شده است (پژوهه شماره ۳/۲۰۰۷۱).

مشارکت نویسندگان

انجام آزمایشات و نگارش پیش‌نویس مقاله: اسماعیل ملاشاهی؛ استاد راهنما، ایده، آنالیز آماری و ویرایش مقاله: حمیدرضا کازرانی.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد قدردانی می‌شود.

References

[1] World Health Organization. Obesity and overweight [Internet]. 2020. [Updated 2020 Apr 1]. Available https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

[2] Segula D. Complications of obesity in adults: A short review of the literature. Malawi Medical Journal. 2014; 26(1):20-4. [PMID] [PMCID]

[3] Mirheydar H. Maaref Giahi (Plant Knowledge). 2nd ed. Tehran: Daftare Nashre Farhange Eslami; 1996. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/512477

[4] Zargari A. [Medicinal plants (Persian)]. 6th ed. Tehran: Tehran University Press; 1996. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/494792

[5] Pooyan M. Medicinal plants of Southern Khorasan (Persian). Mashhad: Danesh-Pooyesh; 1989.

[6] Salehi Yeganeh Rad F. [Medicinal plants in the North of Khorasan (Persian)]. Mashhad: Department of Environment; 2001. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/618748

[7] Samsam Shariat H, Moattar F. [Traditional pharmacy (Persian)]. 2nd ed. Tehran: Rozbahan; 1990. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/718659

[8] Saleh F, Tahir M, Ohtsuka A, Hayashi K. A mixture of pure cellulase, hemicellulase and pectinase improves broiler performance. British Poultry Science. 2005; 46(5):602-6. [DOI:10.1080/00071660500255661] [PMID]

[9] Nafikov RA, Ametaj BN, Bobe G, Koehler KJ, Young GW, Beitz DC. Prevention of fatty liver in transition dairy cows by subcutaneous injection of glucagon. Journal of Dairy Science. 2006; 89(5):1533-45. [DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72221-4]

[10] Hosseini Z. [Common methods for food analysis (Persian)]. 6th ed. Shiraz: Shiraz University Press; 2007. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/565308

[11] Saremi A, Khamsei A, Ervin Daniel J. [Obesity causes (Persian)]. Tehran: Tchehr; 1991. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/557561

[12] De-Silva A, Bloom SR. Gut hormones and appetite control: A focus on PYY and GLP-1 as therapeutic targets in obesity. Gut Liver. 2012; 6(1):10-20. [DOI:10.5009/gnl.2012.6.1.10] [PMID]

[13] Bashar YA, Abubakar A. Performance of broiler birds fed pumpkin (Cucubita maxima) seed meal. Proceeding of the 26th Annual Confe of NSAP. 2001; 26:283-5.

[14] Tanweer AJ, Chand N, Khan S, Qureshi MS, Akhtar A, Niamatullah M. Impact of methanolic extract of peganum harmal on the weight gain, feed conversion ratio, feed cost and gross return of broiler chicks. The Journal of Animal & Plant Sciences. 2012; 22(2):264-7. http://www.thejaps.org.pk/docs/v-22-2/04.pdf

[15] Nworgu FC. Economics of utilization of cocoa (Theobroma cacao) pod husk meal by cockerel chicks. Moor Journal of Agricultural Research. 2002; 3(2):217-22.

[16] Waki H, Park KW, Mitro N, Pei L, Damoiseaux R, Wilpitz DC, et al. The small molecule harmine is an antidiabetic cell-type-specific regulator of PPARgamma expression. Cell Metabolism. 2007; 5(5):357-70. [DOI:10.1016/j.cmet.2007.03.010] [PMID]

[17] Singh AB, Khaliq T, Chaturvedi JP, Narender T, Srivastava AK. Anti-diabetic and anti-oxidative effects of 4-hydroxypipecolic acid in C57BL/KsJ-db/db mice. Human & Experimental Toxicology. 2012; 31(1):57-65. [DOI:10.1177/0960327111407227] [PMID]

[18] Singh AB, Chaturvedi JP, Narender T, Srivastava AK. Preliminary studies on the hypoglycemic effect of Peganum harmal L. Seeds ethanol extract on normal and streptozotocin induced diabetic rats. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2008; 23(4):391-3. [DOI:10.1007/s12291-008-0086-3] [PMID] [PMCID]

[19] Naresh G, Jaiswal N, Sukanya P, Srivastava AK, Tamrakar AK, Narender T. Glucose uptake stimulatory effect of 4-hydroxypipecolic acid by increased GLUT4 translocation in skeletal muscle cells. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2012; 22(17):5648-51. [DOI:10.1016/j.bmcl.2012.06.101] [PMID]

[20] Amir Rasouli H. [Clinical biochemistry (Persian)]. Tehran: Jafari and Azar; 1991. http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/506080

[21] Qazan WS. The effect of low Levels of dietary Peganum harmal L. and Ballota undulate or their mixture on chicks. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2009; 8(8):1535-8. [DOI:javaa.2009.1535.1538]

[22] Hall JE, Guyton AC. Guyton and Hall textbook of medical physiology. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. https://books.google.com/books?id=di5PtQAACAAJ&dq

[23] Hossini E, Sadeghi H, Daneshi A. [Evaluation of hydro-alcoholic extract of Peganum harmal on pituitary-thyroid hormones in adult male rats (Persian)]. Armaghane Danesh. 2009; 14(4): 23-30. http://armaghanj.yums.ac.ir/article-1-579-en.html

[24] Monsef HR, Ghobadi A, Iranshahi M, Abdollahi M. Antinociceptive effects of Peganum harmal L. alkaloid extract on mouse formalin test. Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences. 2004; 7(1):65-9. [PMID]

[25] Beck P, Koumans JHT, Winterling CA, Stein MF, Daughaday WH, Kipnis DM. Studies of insulin and growth hormone secretion in human obesity. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 1964; 64(4):654-67. [DOI:10.5555/uri:pii:0022214364900332]

This Page Intentionally Left Blank