DOI: 10.22034/JAR.2023.2305 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹

اثر عصاره هیدروالکلی یونجه زرد (*Melilotus officinalis*) بر شاخص‌های لیپیدی خون در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ تحت استرس مزمن

مدینه مردانی نیا[۱]، مهران عربی[۱] و سعید ولی پور چهارده چریک[۲*]

[۱] ایران، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۲] ایران، ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایذه، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱

چکیده

مطالعه حاضر بمنظور بررسی اثرات سودمند عصاره هیدروالکلی گیاه یونجه زرد بر شاخص‌های لیپیدی خون در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ تحت استرس مزمن، طراحی و اجرا گردید. در مطالعه حاضر از۴۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار استفاده شد که به گروه‌های کنترل (دست نخورده)، شاهد (دریافت استرس مزمن و سالین نرمال) و۳ گروه تیمار (دریافت کننده استرس مزمن و درمان شده با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰(mg/Kg) ازعصاره یونجه زرد) تقسیم‌بندی شدند. برای ایجاد استرس مزمن بی‌حرکتی، حیوانات روزانه در دستگاه مقیدکننده بمدت ۲ ساعت، برای ۲۱ روز قرارگرفتند. عصاره گیاهی ۳۰ دقیقه قبل از القای استرس مزمن، روزانه برای ۲۱ روز بصورت درون صفاقی به حیوانات تزریق گردید. در انتها و پس از بیهوشی عمیق و خونگیری از قلب حیوانات، نمونه‌های سرم خون جهت ارزیابی شاخص‌های لیپیدی، مورد استفاده قرار گرفتند. درگروه شاهد در مقایسه با کنترل، تری‌گلیسرید (P<۰/۰۰۱)، کلسترول تام(P<۰/۰۵) و VLDL (P<۰/۰۵) افزایش معنی‌دار داشتند. درگروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد، دوز ۱۰۰ از عصاره یونجه زرد، سبب کاهش معنی‌دار در میزان تری‌گلیسرید (P<۰/۰۰۱)، LDL (P<۰/۰۵) و VLDL (P<۰/۰۱) و افزایش در HDL (P<۰/۰۱) شد. دوز ۵۰ از عصاره موجب کاهش معنی‌دار در میزان کلسترول تام (P<۰/۰۰۱)، تری‌گلیسرید (P<۰/۰۰۱) و LDL (P<۰/۰۰۱) گردید. همچنین دوز ۲۵ از عصاره موجب کاهش معنی‌دار در میزان کلسترول تام (P<۰/۰۱)، تری‌گلیسرید (P<۰/۰۰۱) و LDL (P<۰/۰۱) شد. بنابراین عصاره یونجه زرد می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های لیپیدی خون در حیوانات تحت استرس‌های مزمن گردد.

واژه‌های کلیدی: استرس مزمن، شاخص‌های لیپیدی خون، مدل حیوانی، یونجه زرد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۶۶۹۱۳۲۴۷ ، پست الکترونیکی: Sa.valipour@iau.ac.ir

مقدمه

استرس می‌تواند هر اتفاق تهدیدکننده‌ای باشد که پاسخ‌های رفتاری و فیزیولوژیک در افراد ایجاد می‌کند (۲۰). به دلیل شیوع استرس در بین سنین مختلف و به شکل‌های گوناگون که بنظر غیرقابل اجتناب است، بیماری قرن معرفی می‌شود (۲۳). استرس با ایجاد رادیکال‌های آزاد، به اسیدهای چرب اشباع در غشای سلولی آسیب زده و پراکسیداسیون لیپیدها را سبب می‌شود که در ایجاد بیماری‌های قلبی، سکته مغزی، آترواسکلروزیس، سرطان و همچنین افزایش روند پیری بسیار موثر است. در حالت طبیعی سیستم آنتی‌اکسیدانی، بدن را از آسیب رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند (۹). در سراسر دنیا عوارض ناشی از افزایش چربی خون به یکی از نگرانی‌های عمده جوامع بشری تبدیل شده است (۲۴). میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا از عوارض ناشی از افزایش چربی خون از جمله بیماری دیابت رنج می‌برند. ازاین‌رو باتوجه به هزینه‌های بالای درمان و عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای سنتتیک

DOI: 10.22034/JAR.2023.2305 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹

و یا محدودیت مصرف این داروها در برخی از بیماران، استفاده از روش‌های درمانی نوین و مؤثر و با عوارض جانبی کم‌تر، کاملاً احساس می‌شود. این موضوع توجه پژوهشگران زیادی را به استفاده از گیاهان دارویی معطوف کرده است (۱۴).

از گذشته، گیاهان دارویی برای اهداف پزشکی بطور گسترده مورد استفاده قرار می‌گرفتند و امروزه استفاده از آنها همچنان مورد توجه است. برآوردها نشان داده‌اند که در حدود ۲۵ درصد از داروهای تجاری، مستخرج از گیاهانی است که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۴). یکی از این گیاهان، یونجه زرد با نام علمی *Melilotus officinalis* متعلق به خانواده نخودیان *(Leguminosae)* می‌باشد. سرشاخه گلدار این گیاه به عنوان آرام کننده، ادرارآور و رفع ناراحتی‌های عادی سینه استفاده می‌شود. مصرف دم کرده آن بمنظور رفع تحریکات عصبی، بی‌خوابی کودکان و میگرن، رواج دارد. در طب سنتی اکثر کشورهای باستان مانند مصر از دم‌نوش آن بعنوان ضدالتهاب یا ضدانگل یا بصورت ضماد در درمان مفاصل ملتهب و التیام زخم استفاده می‌شد (۴). در این گیاه ترکیبات شیمیایی کومارین، آلکالوئید، ترپنوئید، گلیکوزید، فنل، فلاونوئید و اسیدهای چرب است که در بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه یافت می‌شود (۲۲). مطالعات نشان داده‌اند که بیشترین عملکرد دارویی این گونه به مواد موثره تانن، کومارین، فنل، فلاونویید، ملیلوتین و پلی‌فنل‌های گیاه مربوط می‌شود که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد باکتریایی می‌باشند و در مهار رادیکال‌های آزاد عملکرد بهینه‌ای از خود نشان داده‌اند (۱۳). ماده اصلی تشکیل‌دهنده یونجه زرد در ماده خشک شامل مشتقات اسید سینامیک/کومارین است. مقدار کومارین در این ماده گیاهی بین (۰/۳ تا ۰/۹ درصد) است (۸). باتوجه به اینکه اثرات گیاه یونجه زرد بر روی شاخص‌های لیپیدهای خون در شرایط استرس مزمن گزارش نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه یونجه زرد بر شاخص‌های لیپیدی سرم در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ تحت استرس مزمن، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روشها

گیاه یونجه زرد (شبدر شیرین زرد یا نیلوفر عسلی) با نام علمی *M. officinalis* از منطقه سبزکوه استان چهارمحال‌و بختیاری جمع‌آوری و مورد تأیید بیوسیستماتیکی قرارگرفت. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در شرایط سایه و دمای اتاق خشک و پودر گردیدند و عصاره‌گیری با استفاده از اتانول ۷۰ درصد انجام شد. پس از عصاره‌گیری، ماده صاف‌شده تغلیظ گردید. سپس عصاره حاصل در یک ظرف شیشه‌ای مسطح ریخته شد و در بن ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد به طور کامل خشک شد. عصاره خشک شده تا زمان استفاده برای تهیه غلظت‌های موردنیاز، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲). در این مطالعه تجربی که براساس مجوز به شماره IR.SKU.REC.1400.068 مورخه ۱۴۰۰/۱۱/۱۹ کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شهرکرد انجام شد، از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ نژاد ویستار تهیه شده از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم بعنوان مدل حیوانی استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه ۱۲ ساعت روشنائی (۱۹-۷) و ۱۲ ساعت تاریکی، در قفس‌های پلاستیکی با بستر پوشالی در اتاق حیوانات آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی ایذه با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی (n=۸) بصورت زیر تقسیم‌بندی شدند:

گروه ۱: کنترل (دست‌نخورده): بدون دریافت هرگونه دارو و یا استرس. گروه ۲: شاهد: حلال عصاره (نرمال سالین) را نیم ساعت قبل از القای استرس، بمدت ۳ هفته دریافت نمودند. گروه‌های درمان ۳، ۴ و ۵ که دوزهای مختلف از

DOI: 10.22034/JAR.2023.2305 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹

عصاره یونجه زرد را دریافت کردند که براساس مقادیر استفاده شده در دیگر تحقیقات (۲۵) و برای تعیین مؤثرترین مقدار، ابتدا دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سپس براساس نتایج حاصل از این تجویز بترتیب دوزهای ۵۰ و ۲۵ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) نیم ساعت قبل از القای استرس، بمدت ۳ هفته دریافت نمودند.

بمنظور القای استرس به روش استاندارد بی‌حرکتی، از مقید کننده حرکت (Restrainer) تهیه شده از شرکت برج صنعت با جنس ماکرولون شفاف، استفاده شد که در آن موش‌های بزرگ آزمایشگاهی، فاقد توانایی حرکت بودند. حیوانات مورد آزمایش روزانه از ساعت ۱۰ صبح بمدت ۲ ساعت در درون مقید کننده قرار داده شدند. این روند بی‌حرکتی حیوانات بمدت ۳ هفته ادامه داشت (۱۵). در پایان آزمایش‌ها، جهت ارزیابی شاخص‌های لیپیدی خون، حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین/ زایلزین بصورت عمیق بیهوش شدند و با شکافتن قفسه سینه، خون‌گیری از قلب انجام شد. نمونه‌های خون بمدت یک ساعت در محیط آزمایشگاه جهت عمل لخته شدن نگهداری و سپس به کمک سانتریفیوژ، سرم از خون جدا گردید و جهت سنجش تغییرات سطح شاخص‌های لیپیدی، مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی شاخص‌های لیپیدی خون با استفاده از کیت‌های سنجش بیوشیمیایی شرکت delta-dp شماره H917-S با دستگاه Chemistry Analyser ساخت شرکت زیمنس و بروش نورسنجی (آنزیمی برای اندازه‌گیری فتومتریک) به انجام رسید.

داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش۲۱) تحلیل شدند. با توجه به اینکه نتایج بدست آمده کمی بود، توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov توزیع نرمال داده‌ها تأیید گردید (P>۰/۰۵). داده‌ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) تحلیل شدند. همچنین نتایج بدست آمده بهمراه محاسبات آماری مربوطه بصورت خطای معیار میانگین±میانگین (Mean ± SEM) گزارش شدند. در تمام موارد اختلاف بین گروه‌ها با P<۰/۰۵ معنی-دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نمودار ۱ میزان تری‌گلیسرید خون در گروه کنترل، گروه شاهد و گروه‌های مختلف موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در روز ۲۱ پس از شروع درمان را نشان می‌دهد که در آن استرس مزمن سبب افزایش معنی‌دار در میزان تری‌گلیسرید سرم در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل شده است (***P<۰/۰۰۱) و تجویز دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد در گروه‌های درمان، سبب کاهش معنی‌دار در میزان تری‌گلیسرید خون نسبت به گروه شاهد گردید (###P<۰/۰۰۱). البته درگروه‌های درمان شده با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره یونجه زرد، کاهش معنی‌دار در میزان تری‌گلیسرید خون نسبت به گروه کنترل نیز دیده شد (**P<۰/۰۱).

نمودار ۲ میزان کلسترول تام خون را در گروه کنترل، گروه شاهد و گروه‌های مختلف موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ در روز ۲۱ پس از شروع درمان نشان می‌دهد. در اثر استرس مزمن، گروه شاهد در میزان کلسترول تام خون، نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار را نشان داد (*P<۰/۰۵). در گروه‌های درمان شده با دوزهای ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره یونجه زرد، کاهش معنی‌دار در میزان کلسترول تام خون نسبت به گروه شاهد (به-ترتیب###P<۰/۰۰۱ و ##P<۰/۰۱) دیده شد. البته کلسترول تام در این دو گروه کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نیز داشتند (**P<۰/۰۱).

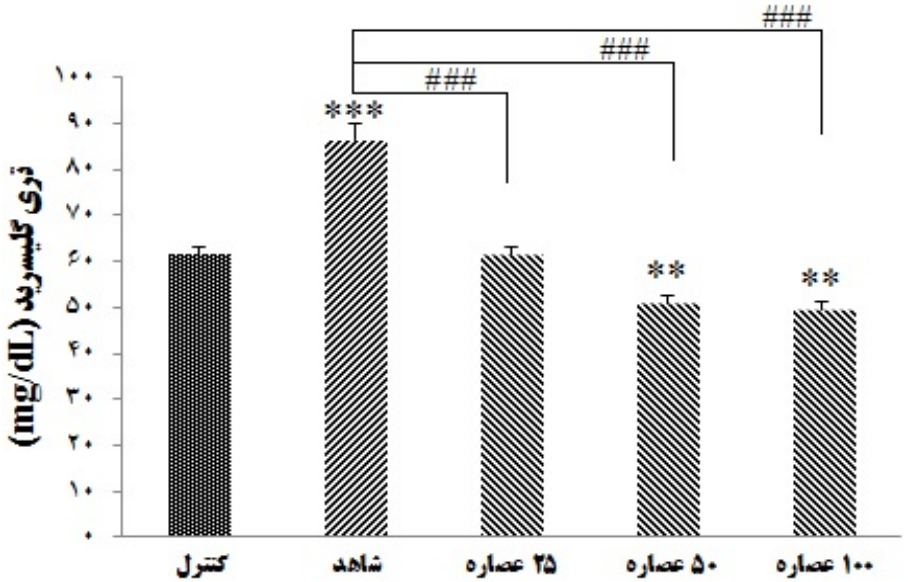
نمودار ۳ میزان HDL خون را در گروه کنترل، گروه شاهد و گروه‌های مختلف موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ در روز ۲۱ پس از شروع درمان نشان می‌دهد. در گروه شاهد در اثر استرس مزمن، میزان HDL خون نسبت به

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹
DOI: 10.22034/JAR.2023.2305

گروه کنترل افزایش نشان داد که البته این افزایش معنی‌دار نبود. گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره یونجه زرد، افزایش معنی‌دار در میزان HDL خون نسبت به گروه کنترل (***P<۰/۰۰۱) و گروه شاهد (##P<۰/۰۱) را نشان داد. گروه دریافت کننده دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره یونجه زرد نیز افزایش معنی‌دار در میزان HDL خون نسبت به گروه کنترل را نشان داده است (**P<۰/۰۱).

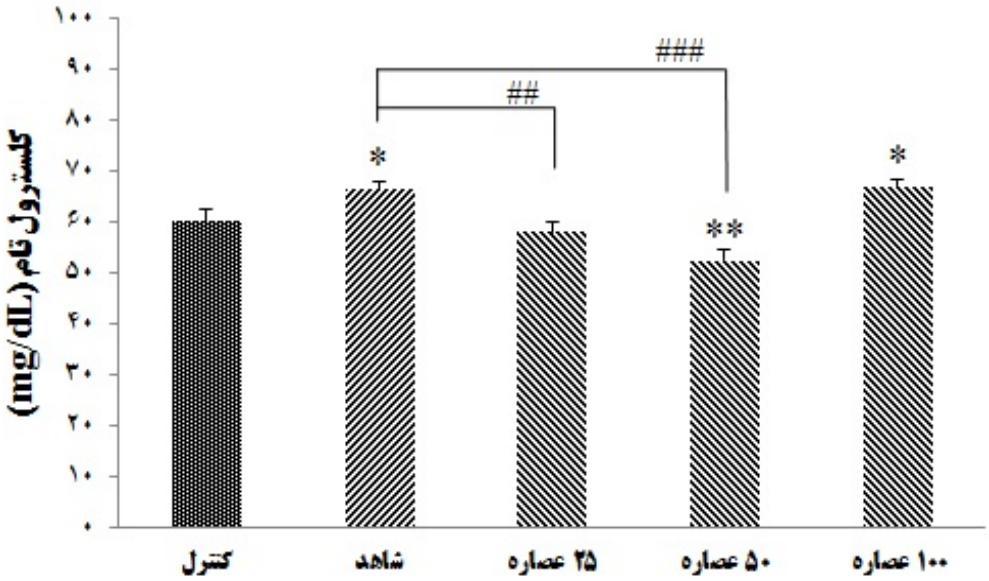
نمودار ۴ میزان LDL خون را در گروه کنترل، گروه شاهد و گروه‌های مختلف موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ در روز ۲۱ پس از شروع درمان نشان می‌دهد. در اثر استرس مزمن، گروه شاهد (دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی درمان نشده) در میزان LDL خون نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار را نشان نمی‌دهد. گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره یونجه زرد، کاهش معنی‌دار در میزان LDL خون نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهند (***P<۰/۰۰۱ و*P<۰/۰۵). گروه‌های القا شده با استرس مزمن دریافت‌کننده دوز۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره یونجه زرد، کاهش معنی‌دار در میزان LDL خون نسبت به گروه شاهد را نشان دادند (#P<۰/۰۵، ###P<۰/۰۰۱ و ##P<۰/۰۱).

نمودار ۵ میزان VLDL خون را در گروه‌های کنترل، شاهد و گروه‌های مختلف موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ در روز ۲۱ پس از شروع درمان نشان می‌دهد. با القا استرس مزمن، گروه شاهد در میزان VLDL خون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار را نشان داد (*P<۰/۰۵). گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره یونجه زرد، کاهش معنی‌دار در میزان VLDL خون نسبت به گروه شاهد را نشان داد (##P<۰/۰۱). این درحالی است که دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره یونجه زرد سبب افزایش معنی‌دار در مقدار VLDL در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی تحت استرس مزمن نسبت به گروه کنترل شده است (**P<۰/۰۱).

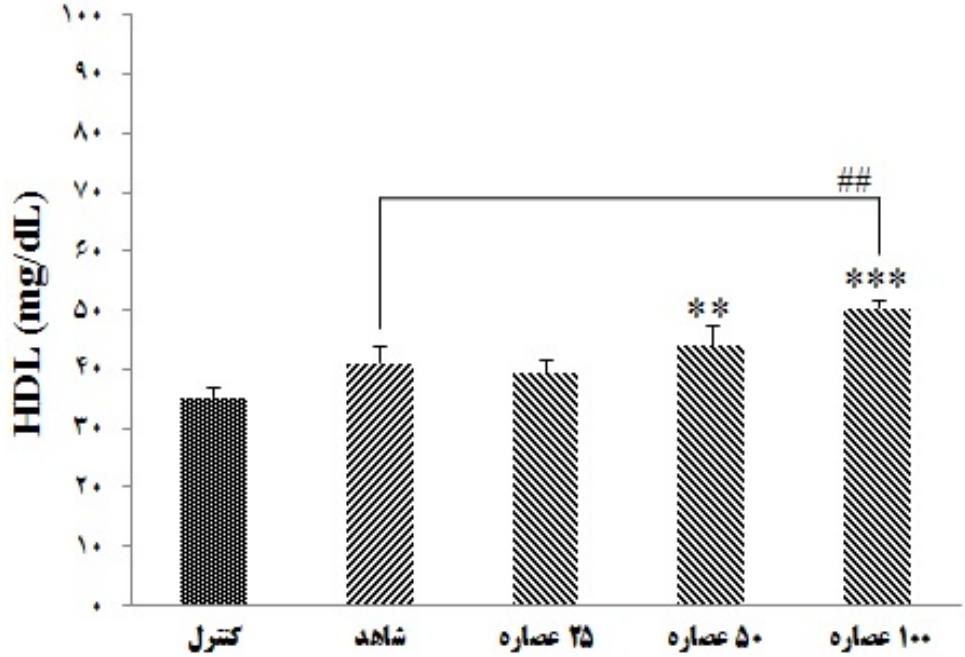


نمودار۱- مقایسه میزان تری‌گلیسرید خون در پایان هفته سوم پس از شروع درمان (دریافت عصاره) در گروه‌های کنترل، شاهد و گروه‌های دریافت کننده استرس بی‌حرکتی درمان شده با دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد (* و# به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه شاهد). جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از تست تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹ DOI: 10.22034/JAR.2023.2305

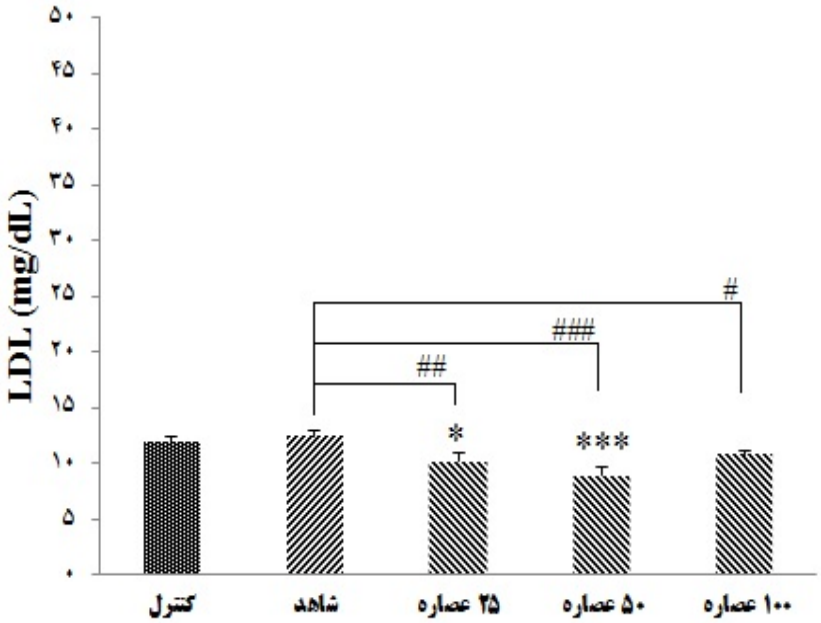


نمودار۲- مقایسه میزان کلسترول تام خون در پایان هفته سوم پس از شروع درمان (دریافت عصاره) در گروه‌های کنترل، شاهد و گروه‌های دریافت کننده استرس بی‌حرکتی درمان شده با دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد (* و #: به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه شاهد). جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از تست تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

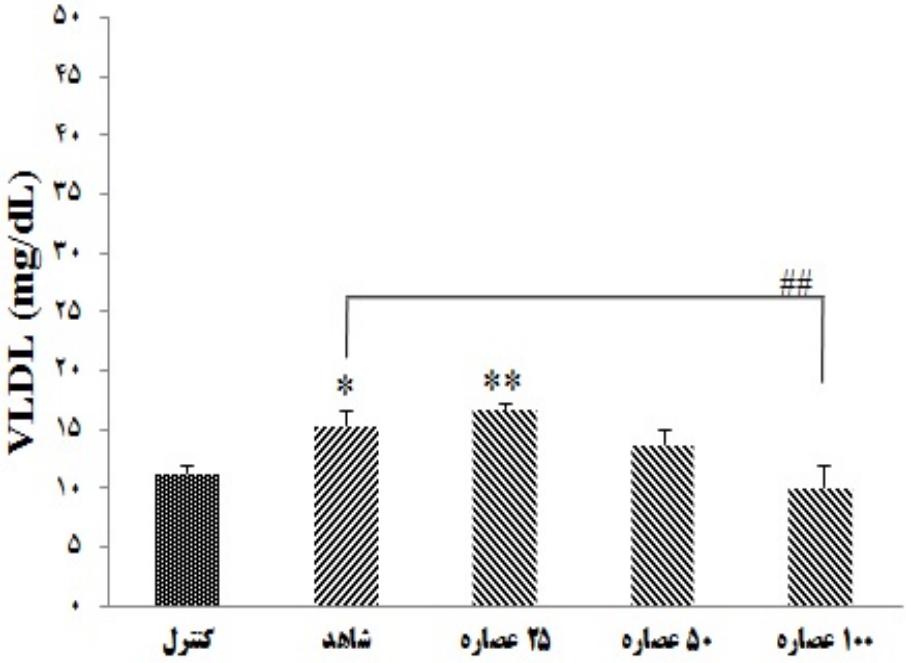


نمودار۳- مقایسه میزان HDL خون در پایان هفته سوم پس از شروع درمان (دریافت عصاره) در گروه‌های کنترل، شاهد و گروه‌های دریافت کننده استرس بی‌حرکتی درمان شده با دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد (* و #: به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه شاهد). جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از تست تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

DOI: 10.22034/JAR.2023.2305 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹



نمودار۴- مقایسه میزان LDL خون در پایان هفته سوم پس از شروع درمان (دریافت عصاره) در گروه‌های کنترل، شاهد و گروه‌های دریافت کننده استرس بی‌حرکتی درمان شده با دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد (* و # : به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه شاهد). جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از تست تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.



نمودار۵- مقایسه میزان VLDL خون در پایان هفته سوم پس از شروع درمان (دریافت عصاره) در گروه‌های کنترل، شاهد و گروه‌های دریافت کننده استرس بی‌حرکتی درمان شده با دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد (* و # به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه شاهد). جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از تست تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

DOI: 10.22034/JAR.2023.2305 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر اثر استرس مزمن بی‌حرکتی بر شاخص-های لیپیدی خون ارزیابی شد که نتایج نشان دادند استرس مزمن بی‌حرکتی، موجب بروز مجموعه‌ای از تغییرات در شاخص‌های لیپیدی خون (هیپرلیپیدمی) در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی می‌گردد. میزان تری‌گلیسرید، کلسترول تام و VLDL خون در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت که در راستای یافته‌های دیگر محققان می‌باشد (۱۸). همچنین نتایج نشان دادند که تجویز دوزهای مختلف عصاره یونجه زرد بصورت درون صفاقی، در حیوانات تحت استرس مزمن بی‌حرکتی سبب کاهش معنی‌دار در شاخص‌های لیپیدی و بهبود سطح سرمی برخی از آنها می‌شود.

مطالعات انجام شده نشان داده‌اند یونجه زرد حاوی مواد موثره متعددی است که عبارتنداز ملیلوتین، کومارین، تری‌ترپن و فلاونوئید که بیشترین مواد موثره اسانس آن کومارین می‌باشد (۱۶) و مشخص شده است که کومارین-های موجود در عصاره‌های گیاهی با مهار تولید کلسترول در کبد و مهار آنزیم‌های دخیل در متابولیسم چربی‌ها و نیز به واسطه افزایش ترشح انسولین و کاهش رهایش اسیدهای چرب آزاد به خون در مهار هیپرلیپیدمی دخالت می‌کنند (۱۹). همچنین ترکیبات فنلی موجود در عصاره گیاهی، قادر به کاهش محتوی لیپیدهای پلاسمایی به جز HDL هستند. این ترکیبات با افزایش رسپتورهای LDL در غشای هپاتوسیت موجب افزایش انتقال آن از خون به درون کبد می‌شوند (۱۲). ترکیبات فلاونوییدی گیاهان با اثر آنتی‌هیپرلیپیدمی خود موجب کاهش میزان کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL در خون می‌شوند (۳). در طی استرس، کاتکول آمین‌ها با تحریک لیپولیز و افزایش جریان ورود اسیدهای چرب به کبد، باعث افزایش ترشح تری-گلیسریدها از کبد به خون می‌شوند (۱۰). براساس نتایج حاصل از دوزهای استفاده شده در مطالعه حاضر، میزان اثرگذاری دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره یونجه زرد بر میزان شاخص های لیپیدی خون نسبت به اثر سایر دوزها در شرایط استرس مزمن، بیشتر می‌باشد. هرچند در مورد VLDL تأثیر دوز ۱۰۰ از عصاره، موثرتر از دوزهای دیگر است.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که قرارگرفتن در معرض استرس برای طولانی مدت، تولید رادیکال‌های آزاد را القاء می‌کند که منجر به تغییر و تبدیل‌های زیان‌آور در غشاها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌شود (۷). همچنین استرس از طریق اختلال در سرعت سنتز و رهاسازی کلسترول، میزان آن را در سرم خون افزایش می‌دهد. نتایج برخی آزمایشات تجربی نشان داده است که کاتکول‌آمین‌ها با فعال کردن لیپولیز در بافت چربی و افزایش جریان ورود اسیدهای چرب به کبد، باعث افزایش سنتز و ترشح تری‌گلیسیریدها می‌شوند. استرس همچنین باعث اختلال در عملکرد آنزیم-های کبدی می‌گردد (۱۰). در مقابل، مطالعات نشان داده‌اند مکانیسم اثر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در کاهش لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها از طریق مهار بیوسنتز کلسترول و افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی و همچنین افزایش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز است. بنابراین غلظت کلسترول که بخشی از لیپوپروتئین‌ها است کاهش و متعاقب آن سنتز لیپوپروتئین کاهش می‌یابد (۴).

همچنین تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند عصاره گیاهان دارویی حاوی فلاونوئیدها، از طریق تأثیر برگیرنده LDLباعث افزایش تعداد این گیرنده‌ها در سطح سلول‌های کبدی می‌شوند. گیرنده LDL با شناسایی آپوپروتئین موجود، به آن متصل شده و LDL به داخل هپاتوسیت‌ها کشیده می‌شود و از جریان خون خارج می‌گردد. گزارش شده است که ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی، گیرنده‌های LDL را در سلول‌های هپاتوسیت کبد افزایش می‌دهند (۱).

از دیگر مکانیسم‌های احتمالی اثر کاهش‌دهنده لیپیدی

DOI: 10.22034/JAR.2023.2305 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹

فلاونوئیدها، کاهش فعالیت آنزیم استیل کلسترول آسیل ترانسفراز سلول‌های کبدی، کاهش فعالیت آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاتیون ردوکتاز و افزایش تعداد گیرنده‌های کبدی کوآنزیم A بیان شده است (۶و۱۷). اگرچه برخی مطالعات نشان داده‌اند مصرف مقادیر زیاد برخی سبزیجات احتمالاً به دلیل داشتن عوامل ضد تغذیه-ای مانند تانن‌ها و آلکالوئیدها ممکن است سبب صدمات کبدی شوند (۱۱و۲۱) و با تأثیر بر فعالیت کبد، اثرات متناقضی بر شاخص‌های لیپیدی داشته باشند. این می‌تواند دلیلی بر افزایش میزان کلسترول تام در گروه تیمار شده با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره یونجه زرد باشد. بطور کلی می‌توان گفت دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره یونجه زرد، نسبت بقیه دوزهای بکار رفته در این مدل استرس، با توجه به مقدار آن و میزان اثرگذاری برروی میزان شاخص‌های لیپیدی خون، موثرتر می‌باشد و تحقیقات بیشتر درخصوص مکانیسم عمل این گیاه و اثرات آن بر شاخص‌های لیپیدی خون در افراد تحت استرس مزمن ضروری بنظر می‌رسد. بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان اظهار نمود که عصاره یونجه زرد با دارا بودن ترکیبات زیست فعال متعدد باعث بهبود و تنظیم میزان شاخص‌های لیپیدی خون حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی می-شود. این اثر احتمالا از طریق تنظیم فعالیت‌های آنزیمی و ژنی مرتبط با این شاخص‌ها صورت گرفته است. بنابراین استفاده از عصاره یونجه زرد می‌تواند در تأمین سلامت سیستم قلبی-عروقی در شرایط استرس مفید و موثر واقع گردد.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی ازنتایج حاصل از پایان نامه کارشناسی‌ارشد رشته فیزیولوژی جانوری می‌باشد و هزینه انجام آن توسط دانشگاه شهرکرد تأمین گردید و از معاونت پژوهش و فن آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه که شرایط مناسب برای انجام این کار پژوهشی را فراهم نمودند قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

۱- عسگری، ص.، رحیمی، پ.، مدنی، ح.، محزونی، پ.، و کبیری، ن.، ۱۳۹۲. اثر عصاره هیدروالکلی گل گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در پیشگیری از دیابت قندی نوع اول در رت‌های نر بالغ. مجله زیست شناسی ایران، سال ۲۶، شماره ۱، صفحات ۱۵۳-۱۴۵.

۲- نیکبخت، ز.، ولی‌پور چهارده چریک، س.، و سازگار، ح.، ۱۳۹۷. اثر تجویز عصاره هیدروالکلی میوه بادمجان بر شاخص های لیپیدی خون در موش‌های صحرایی نر دیابتی. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام. جلد ۲۶ شماره ۲ صفحات ۱۸۰-۱۸۸.

3. Avci, G., Kupeli, E., Eryavu, A., Yesilada, E., and Kucukkurt, I., 2006. Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in turkish folk medicine, Journal Ethnopharmacol, 107(3), PP: 418-423.

4. Borhani, G., Mazandarani, M., and Abbaspour, H., 2018. Eco phytochemical, Ethnopharmacology, Antioxidant and antibacterial activity in different extracts of *Melilotus officinalis* L., from Chaharbagh mountainous region- Semnan province, Ecophytochemistry Journal of Medicinal Plants (EJMP), 6(1)**,** 21: PP: 55-64

5. Champe, P.C., and Harvey, R.A., 1994. Lippincott-raven publishers. Biochemistr, 2, PP: 47-60.

6. Davalos, A., Fernandezhernando, C., Cerrato, F., Martinezbotas, J., Gomez-coronado, D., Gomez-cordoves, C., and Lasunción, M.A., 2006. Red grape juice polyphenols alter cholesterol homeostasis and increase LDL- receptor activity in human cells in vitro. J Nutr, 136, PP: 1766-1773.

7. Droge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev, 82(1), PP: 47-95.

8. Dymowski, W., 2016. Assessment Report on *Melilotus officinalis* (l.) Lam., Herba, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), EMA, PP: 1-7.

9. Finkel, T., and Holbrook, N.J., 2000: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. nature, 408 (6809), PP: 239-247

10. Fontella, F.U., Siquiera, I.R., Vasconcellos, A.P., Tabajara, A.S., Netto, C.A., and Dalmaz, C.,

DOI: 10.22034/JAR.2023.2305

2005. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. Neurochem Res, 30(1), PP: 11-150.

11. Friedman, M., Henika, P.R., and Mackey, B.E., 1996. Feeding of potato, tomato and eggplant alkaloids affects food consumption and body and liver weights in mice. Journal Nutr, 126(4), PP: 989-999.

12. Gorinstein, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Drzewiecki, J., Jastrzębski, Z., Tapia, M.S., Katrich, E., and Trakhtenberg, S., 2005. Red star ruby (sunrise) and blond qualities of jaffa grapefruits and their influence on plasma lipid levels and plasma antioxidant activity in rats fed with cholesterol-containing and cholesterol-free diets. Life Sciences, 77(19), PP: 2384-2397.

13. Hirakawa, T., Okawa, M., Kinjo, J., and Nohara, T., 2000. A new *oleanene glucuronide* obtained from the aerial parts of *Melilotus officinalis*. Chem Pharm Bull, (Tokyo) 48(2), PP: 286–7.

14. Lee, H., Ahn, S., and Kim, Y., 2009. Self–efficacy and glycemic control of korans with diabetesus. Asian Nurs Res, 3(3), PP: 139- 146.

15. Liperoti, R., Vetrano, D.L., Bernabei, R., and Onder, G., 2017. Herbal medications in cardiovascular medicine, Journal Am Coll Cardiol, 69(9), PP: 1188-1199.

16. Martino, E., Ramaiola, I., Urbano, M., Bracco, F., and Collina, S., 2006. Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas as an alternative to soxhlet and ultrasound-assisted extraction, Journal Chromatogr, 1125, PP: 147-151.

17. Matralis, A.N., and Kourounakis, A.P., 2014. Design of novel potent antihyperlipidemic agents with antioxidant/anti-inflammatory properties: exploiting phenothiazines strong antioxidant activity, Journal Med Chem, 57(6), PP: 2568-2581.

18. Nayanatara, A.K., Tripathi, Y., Nagaraja, H.S., Jeganathan, P.S., Ramaswamy, C., Ganaraja, B., Sheila, R.P., and Kamath, A., 2012. Effect of chronic immobilization stress on some selected physiological, biochemical and lipid parameters in wistar albino rats. Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences 3, PP: 34-42

19. Ramesh, B., and Pugalendi, K.V., 2005. Antihyperlipidemic and antidiabetic effects of umbelliferone in streptozotocin diabetic rats. Yale Journal of Biology and Medicine, 78, PP: 187-194.

21. Relier, J.P., 2001. Influence of maternal stress on fetal behavior and brain development. Biol Neonate, 79(3-4), PP: 168-171

22. Silveira, N.A., Alvarez-leite, J.I., Silva, M.E., Vieira, L.Q., Bambirra, E.A., and Vieira, E.C., 1996. Effect of high ingestion of dehydrated Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) on the cholesterol metabolism and on the hepatic histology in mice, Arquivos de Biologia e Tecnologia, 39, PP: 961-974.

24. Stefanovic, D., Tesic, D., and Ljiljana, R., 2015. *Melilotus albus* and *Dorycnium herbaceum* extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm and antioxidant potentials. J Food Drug Anal, 23(3), PP: 417-424.

25. Tavakoli, M., Arab Bani Asad, F., Bani Asad, S.H., and Amin, F., 2009. The effect of immobilization stress on the pruritus behavior in male rats, Shahrekord Med Sciences Journal, 13(2): PP: 13-18.

26. Young, E.E., and Unachukwu, C.N., 2012. Psychosocial aspects of diabetes mellitus. African J Diabetes Med, 20(1), PP: 5-7.

27. Zhao, G.C., Yuan, Y.L., Chai, F.R., and Ji, F.J., 2017. Effect of *Melilotus officinalis* extract on the apoptosis of brain tissues by altering cerebral thrombosis and inflammatory mediators in acute cerebral ischemia. Biomed Pharmacother, 89, PP: 1346–1352.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۴۸-۳۳۹ DOI: 10.22034/JAR.2023.2305

The influence of hydroalcoholic extract of *Melilotus officinalis* on lipid indices of blood serum in adult male rats under chronic stress

Mardaninia M.[1], Arabi M.[1] and Valipour Chahardahcharic S.[2*]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, I.R. of Iran

[2] Dept. of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, I.R. of Iran.

Abstract

This study was hypothesized to evaluate the beneficial effects of *Melilotus officinalis* extract on blood lipid indices in adult male rats under chronic immobility stress. In the present study, 40 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 8 (n=8) including: Control (intact), sham (under chronic stress receiving normal saline), and treatment (under chronic stress receiving *M. officinalis* extract at doses of 25, 50, and 100 mg/kg). To induce chronic immobility stress, the animals were placed in a restraint device for 2 hours daily for 21 days. The plant extract was injected intraperitoneally daily for 21 days, 30 min before induction of chronic stress. At the end, after deep anesthesia, the blood samples were taken out via cardiac puncture. Blood sera were used to evaluate lipid indices. In the sham group compared to the control, a significant increase was observed in triglyceride ($P<0.001$), total cholesterol ($P<0.05$), and VLDL ($P<0.05$) values. A dose of 100 of plant extract caused a significant decrease in triglyceride ($P<0.001$), LDL ($P<0.05$), and VLDL ($P<0.01$) and an increase in HDL ($P<0.01$) values. A dose of 50 of plant extract significantly lowered total cholesterol ($P<0.001$), triglyceride ($P<0.001$), and LDL ($P<0.001$) values. Meanwhile, a dose of 25 of plant extract caused a significant decrease in total cholesterol ($P<0.01$), triglyceride ($P<0.001$), and LDL ($P<0.01$) values. *M. officinalis* extract has the ability to improve blood lipid indices in animals under chronic stresses.

Keywords: Animal model, Blood lipid indices, Chronic stress, *M. officinalis*