مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره دوازدهم، فروردین ۱۳۹۲، ۱۴-۳

اثر عصاره هیدروالکلی هندوانه ابوجهل (Citrullus Colocynthis) بر واکنش قندی شدن آلبومین در محیط برون‌تنی

مهدی محمودی[۱]، جواد حسینی[۲]، سیدمصطفی حسینی‌ذیجود[۳]، وحید پولادوند[۴]، محمد اسدپور[۵]، حدیث اقبالی[۶]

دریافت مقاله: ۹۰/۱۲/۲۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۱/۲/۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۱/۶/۱۸ پذیرش مقاله: ۹۱/۰۶/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: هیپرگلیسمی در دیابت باعث قندی شدن پروتیئن‌های بدن می‌شود که این امر به نوبه خود منجر به تغییر در ساختمان و عملکرد این پروتئین‌ها و ایجاد عوارض بعدی می‌گردد. در این مطالعه، اثر عصاره هندوانه ابوجهل (Citrullus Colocynthis) بر مهار واکنش قندی شدن آلبومین و شکستن پیوند آلبومین و گلوکز در محیط برون‌تنی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تأثیر غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر دسی‌لیتر از عصاره هندوانه ابوجهل در دو حالت، تأثیر بر مهار واکنش قندی شدن آلبومین و اثر بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز، در محیط برون‌تنی بررسی گردید. میزان قندی شدن با روش تیوباربیتوریک اسید سنجیده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون توکی استفاده شد.

یافته‌ها: عصاره هندوانه ابوجهل در تمام غلظت‌ها توانست باعث مهار واکنش قندی شدن آلبومین شود که غلظت ۰/۲ گرم بر دسی‌لیتر بیشترین اثر مهاری را داشت. از طرفی، توانست پیوند آلبومین و گلوکز را بشکند که بیشترین تأثیر را غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر نشان داد و اختلافات معنی‌دار بود. نرخ شکستن پیوند، ارتباط مستقیم با زمان تیمار داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که هندوانه ابوجهل مانع از قندی شدن آلبومین شده و پیوند بین آلبومین و گلوکز را می‌شکند و بدین ترتیب اثر هایپوگلایسمیک دارد، لذا می‌تواند به عنوان گیاه دارویی مفید برای بهبود یا پیشگیری از اختلالات دیابت مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت شیرین، هندوانه ابوجهل، قندی شدن آلبومین

۱- (نویسنده مسئول) استاد بیوشیمی بالینی، گروه آموزشی بیوشیمی، بیوفیزیک و ژنتیک دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

تلفن: ۰۳۹۱-۵۲۳۴۰۰۳، دورنگار: ۰۳۹۱-۵۲۲۵۲۰۹، پست الکترونیک: mahmoodies@yahoo.com

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، بیوفیزیک و ژنتیک دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۳- دانشجوی دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۴- مربی گروه آموزشی بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جیرفت، جیرفت، ایران

۵- استادیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۶- دانشجوی دکتری تخصصی شیمی، دانشگاه زاهدان، زاهدان، ایران

مقدمه

دیابت، اختلال متابولیسمی کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتیئن‌ها می‌باشد که در اثر فقدان یا کاهش تولید انسولین و یا مقاومت نسبت به عمل انسولین به وجود می‌آید [۱]. تحقیقات نشان می‌دهند که علاوه بر عوامل ژنتیکی و خودایمنی، عوامل محیطی هم در ایجاد دیابت نقش دارند [۲]. در دیابت نوع یک، سلول‌های بتای پانکراس تخریب شده و قادر به تولید انسولین نیستند و یا مقدار تولید انسولین توسط آن‌ها بسیار کم می‌شود. در دیابت نوع دو مهم‌ترین علت، مقاومت به انسولین بوده که منجر به کاهش پاسخ به انسولین در بافت‌ها و افزایش برون‌ده کبدی گلوکز و افزایش قند خون می‌شود. این نوع دیابت، شایع‌ترین شکل در میان جوامع انسانی بوده و اغلب در سنین بالای چهل سال و در افراد چاق دیده می‌شود [۳]. استرس اکسیداتیو القاء شده در پیشرفت بیماری دیابت نقش دارد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از تقلیل آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی احتمالاً منجر به اختلال عملکرد سلولی و آسیب اکسیداتیو به غشاها می‌گردد و حساسیت به پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش می‌دهد [۴]. از طرف دیگر، هایپرگلیسمی‌شدید در دیابت باعث قندی شدن پروتیئن‌های بدن شده که این حالت به نوبه خود می‌تواند ایجاد نماد عوارض ثانویه در چشم، کلیه، اعصاب و عروق شود [۱]. واکنش قندی شدن به طور خودبه‌خود و در هر زمان که پروتئین‌ها در معرض قندهای احیاءکننده قرار گیرند، انجام می‌شود و میزان آن بستگی به شدت هایپرگلایسمی و مدت حضور آن در بدن دارد. تشکیل پروتئین‌های قندی باعث تغییر ساختار و فعالیت بیوشیمیایی پروتئین‌ها می‌شود و تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز را به دنبال دارد که این رادیکال‌های آزاد می‌توانند به لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئوتیدها آسیب بزنند و احتمالاً باعث آسیب بافتی در مبتلایان به دیابت گردند [۵]. یکی از پروتئین‌های مهم بدن که متحمل قندی شدن غیرآنزیمی می‌شود، آلبومین سرم است. آلبومین حدود ۶۰٪ پروتئین‌های پلاسما را تشکیل می‌دهد و دارای نقش‌های مهمی از جمله حفظ فشار انکوتیک و انتقال بیومولکول‌های درون‌زاد (اندوژن) و برون‌زاد (اگزوژن) است [۶]. واکنش قندی شدن آلبومین در حقیقت اتصال گروه آلدئیدی قند با عوامل آمین آزاد موجود در ساختمان پروتئینی آلبومین است که به صورت آهسته انجام می‌گیرد. میزان قندی شدن آلبومین به عوامل مختلفی از جمله غلظت گلوکز و زمان انکوباسیون پروتئین با گلوکز بستگی دارد. با توجه به مضرات گفته شده در مورد قندی شدن پروتئین‌ها، مهار این واکنش‌ها برای بهبود عوارض دیابت کاملاً ضروری است. در این زمینه، محققین مطالعات زیادی را انجام داده‌اند تا ترکیباتی بیابند که مانع از قندی شدن پروتئین‌ها گردند بدون این که اثرات جانبی نگران‌کننده‌ای داشته باشند و داروهایی عرضه شده است که می‌توانند کراس‌لینک‌های پروتئین‌های قندی را بشکنند و در بهبود اختلالات دیابت نقش داشته باشند [۷]. اما با توجه به عوارض این داروهای شیمیایی، نیاز به داروهایی با حداقل عوارض و حداکثر درجه اطمینان که بتوان آن‌ها را برای مدت طولانی استفاده کرد، بیش از پیش احساس می‌شود و در این زمینه به طب سنتی توجه زیادی شده است. گیاهان دارویی از جمله مواد طبیعی هستند که احتمال عوارض جانبی آن‌ها بسیار کمتر است. مطالعات اخیر خواص آنتی‌اکسیدانی، ضددیابتی و هایپوگلایسمیک را در گیاهان دارویی به تأیید رسانده‌اند [۸]. اغلب گیاهان

حاوی مقادیر قابل‌توجهی از آنتی‌اکسیدان‌ها شامل: توکوفرول‌ها (ویتامین E)، کاروتنوئیدها، اسیداسکوربیک (ویتامین C)، فلاونوئیدها و تانن‌ها هستند. یکی از این گیاهان که خواص ضد دیابتی و هایپوگلایسمی آن در مطالعات قبلی نشان داده شده، گیاه هندوانه ابوجهل با نام علمی *Citrullus Colocynthis* است. این گیاه به طور طبیعی در بیابان‌های بسیاری از کشورهای حاره‌ای نظیر ایران و غرب عراق رشد می‌کند [۹] و از آن در کتب قدیم به نام حنظل و علقم نام برده شده است، میوه آن به طور سنتی در استان کرمان برای کاهش قند خون مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰]. هم‌چنین از میوه این گیاه برای درمان اختلالات هاضمه و دیابت استفاده می‌شود، هر چند مواردی از مسمومیت حاد بعد از مصرف این گیاه گزارش شده است [۱۱]. عصاره این گیاه حاوی گلیکوزیدها و ساپونین (Saponin) است که بر طبق گزارش‌ها موجب مهار پراکسیداسیون لیپید و توقف تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) می‌شود [۱۲]. در مطالعه حاضر یکی از سازوکارهای احتمالی اثرات مفید هایپوگلایسمی این گیاه بررسی شده است. برای این کار تأثیر هندوانه ابوجهل بر مهار واکنش قندی شدن آلبومین و شکستن پیوند آلبومین و گلوکز در محیط برون‌تنی با استفاده از روش TBA (Thio-barbituric acid) که روشی مرسوم برای تشخیص و سنجش میزان قندی شدن آلبومین است [۱۳]، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع مطالعه تجربی است که از اردیبهشت تا دی ماه سال ۱۳۹۰ به طریق زیر انجام گرفت.

آماده‌سازی عصاره هندوانه ابوجهل: بخش گوشتی میوه گیاه هندوانه ابوجهل، پس از جمع‌آوری و خشک کردن در سایه، از دانه‌ها جدا و پودر گردید. ۱۰۰ گرم از این پودر به نسبت۵۰:۵۰ در نیم لیتر محلول آب مقطر و اتانول خیسانده شده و پس از ۴۸ ساعت از صافی عبور داده شد سپس به وسیله دستگاه فریزدرایر (Vac05 ZirBus, Germany) در حرارت ۵۰- درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط خلاء تغلیظ گردید تا غلظت آن به ۱ گرم در میلی‌لیتر برسد. سپس غلظت‌های: ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر دسی‌لیتر از آن تهیه شد [۱۴].

انجام واکنش قندی شدن آلبومین: به یک میلی‌لیتر محلول ۵ گرم در صد میلی‌لیتر آلبومین، مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول ۳۰ گرم در صد میلی‌لیتر گلوکز اضافه شد و جهت جلوگیری از هر نوع آلودگی محیط، جنتامایسین با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر در بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با pH=۷/۴ و سدیم آزید ۳ میلی‌مولار اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق در حالت ثابت قرار داده شد. بعد از پایان دوره انکوباسیون در بافر فسفات دیالیز شد (کیسه دیالیز قبلا در محلول ۱۰ میلی مول در لیتر EDTA آماده شده بود) [۱۵].

اندازه‌گیری میزان قندی شدن آلبومین: برای تأیید این که آلبومین قندی شدن آلبومین از تست TBA استفاده شد. بدین ترتیب که ۱ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰٪ به مخلوط (گلوکز+آلبومین) اضافه شد و سپس برای ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی را دور ریخته، این عمل دو بار انجام شد. در ادامه به رسوب فوق، ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۱ مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر اگزالیک اسید ۰/۳ نرمال اضافه شده و به مدت ۱ ساعت در بن ماری در حال جوش قرار داده شد. بعد از سرد

شدن در دمای آزمایشگاه، به هر لوله ۰/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۴۰٪ اضافه گردید و بعد از سانتریفیوژ کردن به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه ، مایع رویی جدا شده و به ۱ میلی‌لیتر از آن مایع، ۰/۵میلی‌لیتر محلول TBA ۰/۰۵ مولار اضافه شد، آن گاه نیم ساعت در حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری قرار گرفته و در پایان، جذب نمونه با دستگاه اسپکتوفتومتر مارک gen way ساخت کشور انگلستان در طول موج ۴۴۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. هر چه جذب بیشتر باشد، قندی شدن آلبومین بیشتر خواهد بود [۱۶].

بررسی تأثیر عصاره هندوانه ابوجهل روی مهار واکنش گیکوزیله شدن آلبومین: ۰/۱ میلی‌لیتر از هر کدام از غلظت‌های متفاوت عصاره هندوانه ابوجهل (۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر دسی‌لیتر) به ۱ میلی‌لیتر محلول آلبومین ۵٪ و ۱ میلی‌لیتر گلوکز ۳۰ گرم در لیتر (در محلول بافر فسفات و جنتامایسین) به صورت هم زمان اضافه شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه انکوبه گردید. برای تعیین میزان اثر هر یک از غلظت‌های مختلف، تست TBA انجام گرفت. در این بررسی، میزان جذب مخلوط آلبومین و گلوکز، بدون افزودن عصاره، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. کمتر شدن میزان جذب نسبت به گروه کنترل نشان‌دهنده تأثیر بر واکنش قندی شدن آلبومین می‌باشد. در این بخش گروه‌های پنج گانه به شرح ذیل بودند:

گروه یک: گروه کنترل (آلبومین و گلوکز بدون عصاره هندوانه ابوجهل)

گروه دو: تیمار هم زمان (گلوکز + آلبومین + عصاره با غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر هندوانه ابوجهل)

گروه سه: تیمار هم زمان (گلوکز + آلبومین + عصاره با غلظت ۰/۲ گرم بر دسی‌لیتر هندوانه ابوجهل)

گروه چهار: تیمار هم زمان (گلوکز + آلبومین + عصاره با غلظت ۰/۵ گرم بر دسی‌لیتر هندوانه ابوجهل)

گروه پنج: تیمار هم زمان (گلوکز + آلبومین + عصاره با غلظت ۱ گرم بر دسی‌لیتر هندوانه ابوجهل)

بررسی تأثیر عصاره هندوانه ابوجهل روی شکستن پیوند آلبومین و گلوکز: در این قسمت، ابتدا واکنش قندی شدن آلبومین بررسی شد، سپس غلظت‌های متفاوت عصاره هندوانه ابوجهل (۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر دسی‌لیتر) به آن‌ها اضافه گردید و تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره پس از گذشت زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۴۴ ساعت از تیمار عصاره با محلول آلبومین قندی بر روی شکستن پیوند آلبومین و گلوکز به روش TBA سنجیده شد. در این بخش گروه‌های پنج‌گانه به شرح ذیل بودند:

گروه یک: گروه کنترل (آلبومین قندی بدون عصاره).

گروه دو: بررسی تأثیر غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر عصاره بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز

گروه سه: بررسی تأثیر غلظت ۰/۲ گرم بر دسی‌لیتر عصاره بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز

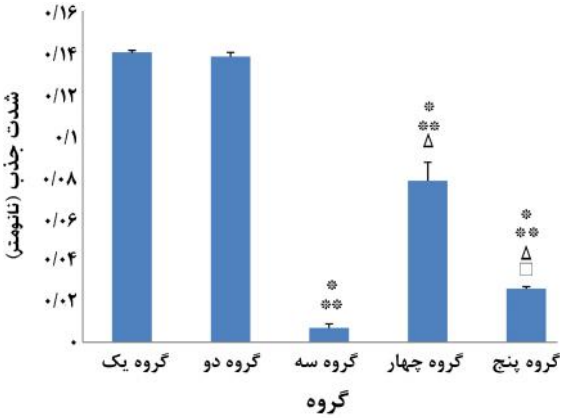
گروه چهار: بررسی تأثیر غلظت ۰/۵ گرم بر دسی‌لیتر عصاره بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز

گروه پنج: بررسی تأثیر غلظت ۱ گرم بر دسی‌لیتر عصاره بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز

جهت انجام محاسبات آماری از برنامه آماری SPSS نسخه ۱۴ استفاده شد. اطلاعات پس از ورود به رایانه با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون توکی تجزیه و تحلیل شد. سنجش‌ها سه بار تکرار شد و از میانگین نتایج در محاسبات آماری استفاده گردید. اختلاف میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

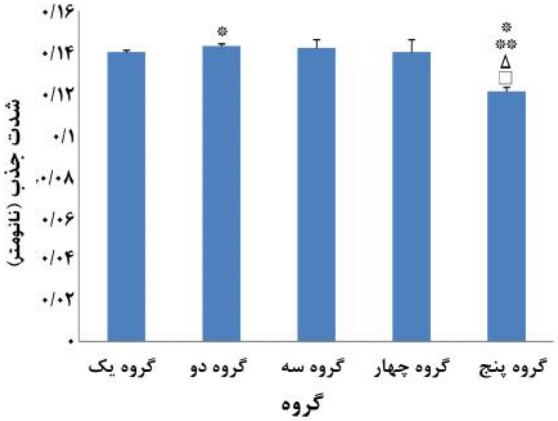
نتایج

تأثیر عصاره روی مهار واکنش: نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل روی مهار واکنش قندی شدن بعد از ۷۲ ساعت تیمار در نمودار ۱ آمده است. مطابق این نمودار عصاره هندوانه ابوجهل در تمامی غلظت‌ها دارای اثر مهاری بود، که این اثرات در مورد غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر دسی‌لیتر اختلاف معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۰) اما اثر مهاری غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. بیشترین اثر مهاری مربوط به غلظت ۰/۲ گرم بر دسی‌لیتر این عصاره بود که به میزان زیادی باعث مهار واکنش قندی شدن گردید. ترتیب اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل بر میزان مهار واکنش قندی شدن غیر آنزیمی آلبومین به صورت زیر بود: ۰/۲>۱>۰/۵>۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر و همان‌طور که مشاهده می‌شود، اختلاف در میزان مهار واکنش گلیکه شدن آلبومین در گروه‌های مختلف تابع غلظت عصاره هندوانه ابوجهل نیست.



نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل بر میزان مهار واکنش قندی شدن غیرآنزیمی آلبومین بعد از ۷۲ ساعت تیمار (*): اختلاف معنی‌دار با گروه یک، (**): اختلاف معنی‌دار با گروه دو، (Δ): اختلاف معنی‌دار با گروه سه، (□): اختلاف معنی‌دار با گروه چهار

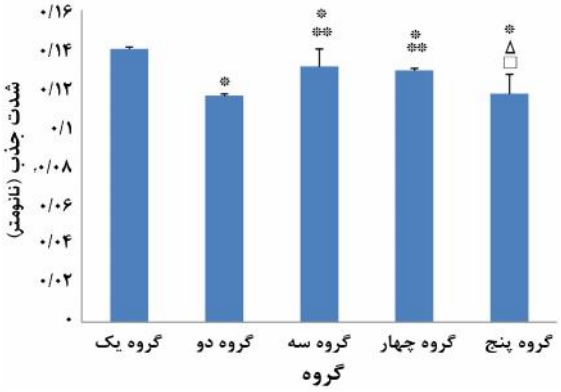
تأثیر عصاره بر روی شکستن پیوند آلبومین و گلوکز: نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل روی شکستن پیوند آلبومین و قند (آلبومین قندی شده) در نمودارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ آمده است. در مدت ۲۴ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل، غلظت ۱ گرم بر دسی‌لیتر به طور معنی‌داری میزان آلبومین قندی را کاهش داد و پیوند آلبومین قندی را شکست. غلظت ۰/۵ گرم بر دسی‌لیتر بی‌تأثیر بود در حالی که غلظت ۰/۲ گرم بر دسی‌لیتر به طور خفیف قندی شدن را افزایش داد از طرفی، غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل قندی شدن آلبومین را افزایش داد (p=۰/۰۴۰) (نمودار ۲).



نمودار ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز (۲۴ ساعت تیمار عصاره با آلبومین قندی شده)

(*): اختلاف معنی‌دار با گروه یک، (**): اختلاف معنی‌دار با گروه دو، (Δ): اختلاف معنی‌دار با گروه سه، (□): اختلاف معنی‌دار با گروه چهار

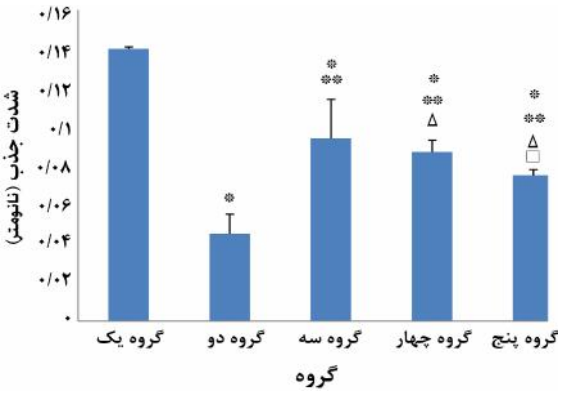
تیمار غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل به مدت ۴۸ ساعت به طور معنی‌داری آلبومین قندی را کاهش داد و پیوند قند و آلبومین را گسست (p=۰/۰۰۰) که بیشترین تأثیر مربوط به غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر بود (نمودار ۳).



نمودار ۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز (۴۸ ساعت تیمار عصاره با آلبومین قندی شده)

(*): اختلاف معنی‌دار با گروه یک، (**): اختلاف معنی‌دار با گروه دو، (Δ): اختلاف معنی‌دار با گروه سه، (□): اختلاف معنی‌دار با گروه چهار

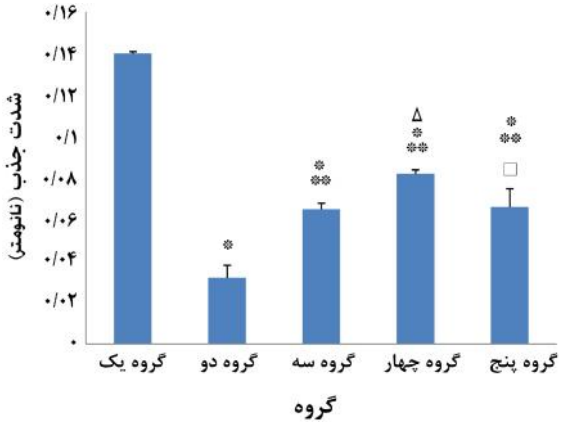
همان‌طور که در نمودار ۴ آمده است تمام غلظت‌های عصاره هندوانه ابوجهل به مدت ۷۲ ساعت، پیوند آلبومین قندی را در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری شکسته بودند (p=۰/۰۰۰) و غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر بیشترین شکستن پیوند را نشان داد که بالطبع بیشترین کاهش آلبومین قندی را داشت (نمودار۴).



نمودار ۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز (۷۲ ساعت تیمار عصاره با آلبومین قندی شده)

(*): اختلاف معنی‌دار با گروه یک، (**): اختلاف معنی‌دار با گروه دو، (Δ): اختلاف معنی‌دار با گروه سه، (□): اختلاف معنی‌دار با گروه چهار

تیمار غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل به مدت ۱۴۴ ساعت، به طور معنی‌داری آلبومین قندی را کاهش داد، یعنی پیوندهای بیشتری را بین قند و آلبومین شکست (p=۰/۰۰۰). غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر بیشترین شکستن پیوند را داشت (p=۰/۰۰۰) (نمودار ۵).



نمودار ۵- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه ابوجهل بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز (۱۴۴ ساعت تیمار عصاره با آلبومین قندی شده)

(*): اختلاف معنی‌دار با گروه یک، (**): اختلاف معنی‌دار با گروه دو، (Δ): اختلاف معنی‌دار با گروه سه، (□): اختلاف معنی‌دار با گروه چهار

مطابق این نمودارها مشخص گردید که هر چقدر عصاره، زمان بیشتری با مخلوط آلبومین و گلوکز (آلبومین قندی شده) در معرض باشد، اثر آن در شکستن پیوند بیشتر است، به عبارتی، شکستن پیوند وابسته به زمان است تا این که وابسته به غلظت باشد. یعنی با افزایش زمان تیمار، شکستن پیوند بیشتر می‌شود که تیمار ۱۴۴ ساعت بیشترین اثر را داشت و از طرفی، در همه ساعت‌های ذکر شده، غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر بیشترین اثر را در شکستن پیوند بین آلبومین و گلوکز داشت اما در مورد تیمار ۲۴ ساعت (نمودار۲) این تأثیر مربوط به غلظت ۱ گرم بر دسی‌لیتر است.

بحث

دیابت ملیتوس یکی از اختلالات شایع اندوکرین در جوامع بشری است که مقابله با عوارض ناشی از آن، هزینه هنگفتی را به سیستم درمانی تحمیل می‌نماید. مهم‌ترین و شاخص‌ترین علامت کلینیکی آن افزایش قند خون می‌باشد که منجر به قندی شدن غیر آنزیمی پروتئین‌های مختلف بدن (شامل اتصال گروه آزاد آلدهید گلوکز یا دیگر قندها به گروه‌های آمینو آزاد غیرحفاظت شده پروتئین‌ها) می‌گردد [۱۷]. چون سلول‌ها و ماتریکس خارج سلولی آن رابطه پویا و دوطرفه دارند، تغییر ترکیبات ماتریکس با قندی شدن، منجر به تغییر رفتار سلولی مثل تغییر در انتشار سلولی و فسفریلاسیون مولکول‌های کلیدی در سیگنالینگ داخل سلولی و بیان پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و واسطه‌هایشان می‌گردد. ماتریکس خارج سلولی بیماران دیابتی خیلی بیشتر از ماتریکس خارج سلولی غیردیابتی‌ها قندی می‌شود. تجمع محصولات قندی و تغییرات ماتریکس ساختاری خارج سلولی با توسعه اختلالات کارآیی در دیابت مرتبط است [۱۸]. با توجه به این نکات به نظر می‌رسد یکی از مهم‌ترین راه‌های پیش‌گیری از عوارض دیررس بیماری دیابت مهار واکنش قندی شدن غیرآنزیمی پروتئین‌ها است.

در مطالعه حاضر، اثر عصاره هندوانه ابوجهل در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر دسی‌لیتر بر مهار واکنش قندی شدن آلبومین (اضافه کردن عصاره و گلوکز به آلبومین به صورت هم زمان) بررسی شد. عصاره هندوانه ابوجهل در تمامی غلظت‌ها اثر مهاری داشت که بیشترین اثر مربوط به غلظت ۰/۲ گرم بر دسی‌لیتر بود اما بین غلظت عصاره و مهار واکنش رابطه مشخصی مشاهده نشد. در این زمینه مطالعات منتشر شده‌ای یافت نشده است که بتوان با یافته‌های مطالعه حاضر مقایسه نمود.

در قسمت دیگری از مطالعه اثر عصاره هندوانه ابوجهل در غلظت‌های ذکر شده بر شکستن پیوند آلبومین و گلوکز بررسی شد. با افزایش زمان تیمار عصاره با آلبومین قندی، شکستن پیوند بیشتر شد که احتمالاً به دلیل افزایش مدت زمان تماس عصاره با پیوند آلبومین-گلوکز است و این نکته گویای این مطلب است که اگر مصرف عصاره هندوانه ابوجهل تداوم داشته باشد، تأثیرش بر عوارض بیماری دیابت بیشتر خواهد شد. همچنین، همان‌طور که در نتایج آمده است در تمام زمان‌ها به جز ۲۴ ساعت تیمار، غلظت ۰/۱ گرم بر دسی‌لیتر بیشترین تأثیر را بر شکستن پیوند آلبومین- قند داشته است. تاکنون مطالعات مختلفی در ارتباط با عوامل مؤثر بر قندی شدن غیرآنزیمی پروتئین‌های سرم انجام شده است. در مطالعه‌ای که توسط Safari و همکاران بر روی برخی از فرآورده‌های گیاهی انجام شد، روغن‌های فرار از جمله پولگون، تیمول، ژرانیول، لینالول و لیمونن سبب کاهش قندی شدن غیرآنزیمی در آزمایشگاه شدند [۱۹]. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که زردچوبه، هل و زنجبیل می‌توانند باعث کاهش قندی شدن غیرآنزیمی‌آلبومین در محیط برون‌تنی شوند [۱۴] که همه این مطالعات سازگار با یافته‌های مطالعه حاضر است. با توجه به این که میوه هندوانه ابوجهل دارای ترکیبات گلیکوزیدی (کولوسنتین)، آلکالوئیدی، ساپونینی، فلاوونوئیدی، صمغی و روغنی می‌باشد [۲۰] به نظر می‌رسد اثرات هیپوگلیسمیک آن به واسطه این اجزاء باشد [۲۱].

امروزه توجه زیادی به مهارکننده‌های واکنش قندی شدن به دلیل پتانسیل درمانی آن‌ها شده است. ترکیبات

ضد قندی شدن احتمالاً با بلوک کردن گروه‌های کربونیل روی قندهای احیاء شده، محصولات آمادوری و ۳-داکسی گلوکوزون (3-deoxyglucosones) مانع تشکیل محصولات قندی پیشرفته می‌شوند که احتمالاً در مطالعه حاضر عصاره هندوانه ابوجهل از این طریق عمل نموده است. اخیراً داروهایی یافت شده‌اند که کراس لینک محصولات قندی پیشرفته را می‌شکنند و اختلالات دیابت را کاهش می‌دهند [۲۳-۲۲]. در مطالعه حاضر نیز هندوانه ابوجهل چنین تأثیری را نشان داد که برای فهم دقیق‌تر سازوکارهای احتمالی نیاز به مطالعات بعدی است.

در پژوهشی دیگر، اثر فلاونوئیدهای مختلف روی واکنش قندی شدن غیرآنزیمی پروتئین‌ها بررسی گردید. فلاونوئیدها، روتین، کامپفرول، کوئرستین، آپیژنین، نارینجین، مورین و بیوچانین آ سبب کاهش قندی شدن غیرآنزیمی آلبومین، هموگلوبین و انسولین در آزمایشگاه شدند [۲۴]. هم چنین Delers و همکارانش نشان دادند که بعضی از ترکیبات پلی فنلی موجود در گیاهان قادر به کاهش گلیکاسیون پروتئین‌های موجود در خون نظیر هاپتوگلوبین هستند [۲۵]. در مطالعه‌ای نشان داده شد که S- آلیل سیستئین موجود در سیر، ترکیب اصلی و مؤثر در ضد قندی شدن می‌باشد [۲۶].

مطالعات دیگری نیز بر روی اثرات ضددیابتی هندوانه ابوجهل انجام گرفته است. نتایج مطالعه Ethan و همکاران نشان داد که عصاره هندوانه ابوجهل حاوی ترکیباتی است که از نظر ساختمانی مشابه انسولین حیوانی می‌باشند و اثر ضددیابتی نشان می‌دهند [۲۷]. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Nikbakht و همکاران انجام شد، اثر هیپوگلیسمیک عصاره آبی- الکلی هندوانه ابوجهل در موش‌های دیابتی نشان داده شد [۲۸]، که این یافته با نتایج مطالعه Issa Abed و همکاران همخوانی دارد [۲۰]. در دو مطالعه دیگر نیز، نشان داده شد که مصرف هندوانه ابوجهل در موش‌های صحرایی دیابتی باعث کاهش قند خون و همچنین بهبود تخریب بافتی در اثر دیابت می‌شود [۳۰-۲۹].

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، عصاره هندوانه ابوجهل اثرات کاهش‌دهنده قند خون و ضد قندی شدن را هم از طریق ممانعت از انجام واکنش قندی شدن غیرآنزیمی آلبومین و هم از طریق شکستن پیوند ایجاد شده بین آلبومین و گلوکز اعمال نمود که این تأثیرات را می‌توان به حضور ترکیبات موجود در این گیاه نسبت داد و با انجام مطالعات تکمیلی، از این گیاه به عنوان داروی مؤثر در درمان و پیشگیری از اختلالات دیابت استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از آقای محمدرضا صفری عضو هیأت علمی‌گروه بیوشیمی و تغذیه دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر راهنمایی‌های مفید و خانم فهیمه محمدی از پرسنل محترم آزمایشگاه پاتوبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان بابت همکاری‌شان تشکر و قدردانی می‌شود.

References

[1] Biyani MK, Banavalikar MM, Suthar AC, Shahani S, Sivakami S, Vidri J. Antihyperglycemic effects of three extract from Momoridica charantia. *J Ethnopharmocol* 2003; 88(1): 107-11.

[2] Knip PM, Veijola R, Virtanen SM, Hyoty H, Vaarala O, Akerblom HK. Environmental triggers and determination of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54 Suppl(2): 125-36.

[3] Power AC. Diabetes mellitus. Harrison principles of internal medicine.15th ed. USA: *Mcgraw-Hill* 2005; pp: 2109-38.

[4] Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Anti-oxidant effect of Aloevera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep* 2005; 57(1): 90-6.

[5] Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5(5): 561-8.

[6] Peters TJr. Serum albumin. *Adv Protein Chem* 1985; 37: 161-245.

[7] Swamy MS, Abraham EC. Inhibition of lens crystalline glycation and high molecular weight aggregate formation by aspirin in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30(6): 1120-6.

[8] Alpers DH. Garlic and its potential for prevention of colorectal cancer and other conditions. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25(2): 116-21.

[9] Diwan H, Abdel-Hassan IA, Mohammed ST. Effect of saponin on mortality and histopathological changes in mice. *Eastern Mediterranean Health J* 2000; 6(2-3): 345-51.

[10] Yaniv Z, Shabelsky E, Schafferman D. Colocynth: Potential arid land oilseed from an ancient cucurbit. *ASHS Press* 1999; 257-61.

[11] Asfi IA. Some pharmacological studies on Citrullus colocynthis. *J Herbs, Spices Med Plants* 1994; 2: 65-79.

[12] Barth A, Muller D, Durrling K. In vitro investigation of a standardized dried extract of Citrullus colocynthis on liver toxicity in adult rats. *Exp Toxicol Pathol* 2002; 54(3): 223-30.

[13] Dolhofer R, Wieland OH, Ambrose RN. Nursing herbal medicine handbook. Pennsylvania*: Spring House* 2001; pp: 101-2, 198-212, 311-39, 435-6.

[14] Sheykh N, Safari M, Mani Kashani Kh, Araghchian M, Zeraati F, Malakouti SM. The effect of turmeric, cardamom and ginger on in vitro albumin glycation. *Sci J Hamadan Univ of Med Sci Health Serv* 2004; 10(4): 47-50. [Farsi]

[15] Dolhofer R, Wieland OH. Improvement of the thiobarbituric acid assay for serum glycosylprotein

determination. *Clin Chim Acta* 1981; 112(2): 197-204.

[16] Work TS, Work E. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. *Notth Holland Publishing Compan* 1969; 423-8.

[17] Thrope SR, Baynes JW. Role of the maillard reaction in diabetes mellitus and Disease of aging. *Drugs Aging* 1996; 9(2): 69-76.

[18] Rahbar S, Blumenfeld O, Ranney HM. *Biochem. Biophys Res Commun* 1969; (36): 838-41.

[19] Safari M, Sheykh N, Mani Kashani Kh. Effect of some essential oils on albumin glycation in vitro. *J Med Plants* 2002; 1(3): 79-83. [Farsi]

[20] Issa Abed AH, Jamal Ahmed AB, Sarah TM. The hypoglycemic and antihyperglycemic effect of citrullus clocynthis fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2000; 71 (1-2): 325-30.

[21] Letita M, Timothy J. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the Indigenous peoples of the North American boreal forest. *J Ethnopharmacol* 2002; 82: 197-205.

[22] Hunt JV, Bottoms MA, Mitchinson MJ. Oxidative alterations in the experimental glycation model of diabetes mellitus are due to protein-glucose adduct oxidation. Some fundamental differences in proposed mechanisms of glucose oxidation and oxidant production. *Biochem J* 1993; 291(Ptz): 529-35.

[23] Ahmed N. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 67(1): 3-21.

[24] Asgary S, Naderi Gh, Gharipoor M. The effect of some flavonoids on in vitro non-enzymatic glycosylation of proteins. *Behbood* 2004; 8(1): 1-9. [Farsi]

[25] Delers F, Strecker G, Engler R. Glycosylation of chiken haptoglobin: Isolation and characterization of three molecular variants and study their distribution in hen plasma before and after terpen induced inflammation. *Biochem Cell Biol* 2004; 66(3): 208-17.

[26] Nakagawa T, Yokozawa T, Terasawa K, Shu S, Juneja LR. Protective activity of green tea against free radical and glucose-mediated protein damage. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 2418-22.

[27] Ethan BW, Steven G, Catherine U. Bitter Melon (Momordica charantia): a review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm* 2003; 60: 356-9.

[28] Nikbakht MR, Gheytasi E. The hypoglycemic effect of *Citrullus colocynthis* extract in normoglycemic and diabetic rats. *Armaghan-e-danesh* 2006; 11(2): 63-71. [Farsi]

[29] Pooladvand V, Taghavi MM, Mahmoodi M, Tavakolian Ferdosieyeh V, Hosseini Zijoud SM. Histological alterations due to the consumption of

GR, et al. Survey on the effects of different concentrations of Citrullus Colocynthis fruit powder on some of the blood biochemical factors in normal and diabetic male rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2012; 11(1): 11-20. [Farsi]

different doses of Citrullus Colocynthis fruit in normal and diabetic male rats. *J Mazand Univ Med Sci* 2011; 21(82): 63-71. [Farsi]

[30] Mahmoodi M, Sayyadi AR, Hosseini Zijoud SM, Hajizadeh MR, Kazemi Arababadi M, Asadikaram

The Effect of *Citrullus Colocynthis* Hydroalcoholic Extract on *in vitro* Albumin Glycation

M. Mahmoodi[1], J. Hosseini[2], S.M. Hosseini-zijoud[3], V. Pooladvand[4], M. Asadpour[5], H. Eghbali[6]

Received: 10/03/2012 Sent for Revision: 21/04/2012 Received Revised Manuscript: 08/09/2012 Accepted: 17/09/2012

Background and Objectives: The hyperglycemia in diabetes leads to body proteins glycation, which consequently alter their structure and function and cause later complications. In the current study the effect of *Citrullus Colocynthis* extract on inhibition of albumin glycation reaction and breaking the linkage between albumin and glucose in vitro was examined.

Materials and Methods: In this experimental study, the effect of 0.1, 0.2, 0.5 and 1 g/dl concentration of *Citrullus Colocynthis* extract in two statuses: 1- inhibition of albumin glycation reaction and 2- breaking the linkage between albumin and glucose was examined *in vitro*. The amount of glycation was assayed by TBA (Thiobarbituric Acid) and $p<0.05$ considered as significant level. For data analysis, one way ANOVA and Taukey's were used.

Results: The *Citrullus Colocynthis* extract in all concentrations inhibited the albumin glycation reaction which the 0.2 g/dl concentration had the most effect and the differences were significant ($p<0.05$). On the other hand breaking the bound between albumin and glucose, showed that 0.1 g/dl concentration had the most effect and the differences were significant ($p<0.05$). The rate of linkage breaking has direct relation with time period of treatment.

Conclusion: The findings of present study demonstrated that *Citrullus Colocynthis* prevents albumin glycation and also breaks the linkage in albumin and glucose, therefore it could have hypoglycemic effect. It could be considered as a useful herbal medicine for alleviate or obstacle of diabetes complications.

Key words: Diabetes mellitus, *Citrullus Colocynthis*, Albumin glycation

Funding: This research was funded by Rafsanjan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Rafsanjan University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Mahmoodi M, Hosseini J, Hosseini-zijoud S.M, Pooladvand V, Asadpour M, Eghbali H. The Effect of *Citrullus Colocynthis* Hydroalcoholic Extract on *in vitro* Albumin Glycation. *J Rafsanjan Univ Med Scie* 2013; 12(1): 3-14. [Farsi]

1- Prof of Clinical Biochemistry, Dept. of Biochemistry, Biophysics & Genetics, Faculty of Medicine, Molecular Medicine Research Centre, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
(Corresponding Author) (0391) 5234003, Fax:(0391) 5225209, E-mail: mahmoodies@yahoo.com
2- MSc Student of Clinical Biochemistry, Dept. Of Biochemistry, Biophysics & Genetics, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
3- Ph.D student of Clinical Biochemistry, Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran
4- Academic Member, Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Jiroft University of Medical Sciences, Jiroft, Iran
5- Assistant Prof., Dept. of Social Medicine, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
6- PhD Student of Chemistry, Zahedan University, Zahedan, Iran