اثرات Momordica charanita بر روی چاقی و پروفایل چربی موش های تغذیه شده با رژیم غذایی پر چرب

موضوعات پیش زمینه ای. مطالعه اخیر انجام شده‌است تا اثرات عصاره آبی Momordica charantia خشک شده(MCA) و عصاره اتانول (MCE) را بر پروفایل چربی و چاقی در موش‌هایی بررسی کند که با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شده اند.

مواد و روش‌ها: چهل و دو موش ICR به صورت تصادفی در شش گروه تقسیم شده اند. گروه نرمال از یک رژیم غذایی پایه ای استفاده کرده است در حالی که گروه‌های دیگر از رژیم غذایی 45٪ پر از چربی(HFD) به مدت 7 هفته استفاده کرده اند. گروه‌های نرمال و HFD هم چنین به صورت دهانی از آب مقطر در هفت روز رژیم تغذیه شده اند. گروه‌های باقی مانده از عصاره Momordica charantia (MCA g/kg/day 0.5-1، 0.5- 1.0g/kg/day MCE) را دریافت کرده اند. برای اندازه گیری اثرات بهبودی پروفایل لیپیدی و ضد قارچی، بدن و وزن بافت احشایی، پروفایل لیپیدی، سطح انسولین کبدی، سطح مالونیل دی آلدهید کبدی (MDA) و فعالیت سوپراکسید دسموتاز (SOD) اندازه گیری شده‌است.

نتایج. هم MCA و MCE به طور قابل ملاحظه ای وزن بدن و وزن بافت احشایی را در مقایسه با گروه HFD از دست می‌دهند ($P<0.05$). به علاوه، دوزهایی بالایی از MCA و MCE به طور قابل توجه، سطوح انسولین پلاسمایی را درمقایسه با گروه‌های HFD کاهش می‌دهند ($P<0.05$) و این کاهش در غلظت‌هایی است که در مقایسه با گروه نرمال قرار می‌گیرد. مصرف MCA و MCE هم چنین به میزان قابل توجهی پروفایل لیپید را در پلاسما، کبد و مدفوع در مقایسه با موش‌هایی که با HFD تغذیه شده اند، تغییر می‌دهند($P<0.05$). به علاوه،

MCA و MCE به طور قابل توجهی فعالیت SOD کبدی را افزایش می‌دهد و تولید MDA را در کبد و موش‌های HFD کاهش می‌دهد($P<0.05$).

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده از مطالعه حال حاضر نشان می‌دهد که عصاره Momordica charantia، اثرات ضد چاقی و توانایی تغییر پروفایل چربی موش‌هایی را دارد که با رژیم پرچرب تغذیه شده اند و این تغییرات شامل مهار افزایش وزن بدن، افزایش وزن بافت‌های احشایی، غلظت لیپید کبدی و پلاسمایی و لیپید پراکسیداسیون است که با افزایش متابولیسم لیپید این نتایج حاصل می‌شود.

کلمات کلیدی: Momordica charantia، موش ICR، چاقی، پروفایل لیپیدی، وزن.

مقدمه

در سال 1997، چاقی به عنوان یک مشکل بزرگ سلامتی و اپیدمی‌جهانی توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) شناخته شد. نرخ چاقی در سراسر جهان در طی سه دهه اخیر، افزایش یافته است. براساس تخمین انجام شده توسط WHO در حدود 200 میلیون مرد و وتقریبا 300 میلیون زن در سال 2008، از چاقی رنج می‌بردند. شیوع افراد چاق در آسیا افزایش پیدا کرده است. در کره جنوبی، تغییرات قابل توجهی در سبک زندگی و محیط زیست در طی دهه‌های اخیر رخ داده است. به جهت افزایش مصرف الکل و کاهش فعالیت‌های فیزیکی، تعداد بیماران مبتلا به چاقی به طور قابل ملاحظه ای در کره جنوبی افزایش پیدا کرده است. به علاوه، شیوع بیماری‌های مربوط به چاقی هم به میزان قابل توجهی افزایش یافته است. در چین، سبک زندگی بسیار تغییر کرده است، بنابراین اصلاحاتی باید صورت بگیرد و کشور باید آن را آغاز کند. یک رژیم غنی از چربی و دارای کربوهیدرات پایین معمول رو به افزایش و کاهش عمومی‌در شدت فعالیت‌های فیزیکی منجر به رشد سریع نرخ چاقی در بین مردم چین می‌شود. شیوع افزایش وزن و چاقی در بین مردم چین، 23.2٪ است که نزدیک به یک چهارم از جمعیت کل را در بر می‌گیرد. در چین،

چاقی یک بیماری اپیدمیک مهم شده‌است. برای حفظ سلامتی و افزایش کیفیت زندگی، بسیاری از افراد به دنبال راه‌هایی می‌گردند که چاقی را درمان کنند و از دست دادن وزن را بهبود بخشند.

چاقی یک فاکتور خطر مرتبط برای بیماری‌های قلبی عروقی است. بیمارانی که از بیماری‌های قلبی عروقی رنج می‌برند، معمولا کلسترول خون بالا و سطح کلسترول لیپوپروتئین کم تراکم بالایی دارند که فعالیت لیپید پراکسیداسیون را افزایش می‌دهد. به علاوه، چاقی معمولا ارتباط نزدیکی با پروفایل لیپیدی دارد. مقدار بالای لیپید به عنوان خطری برای آنترواسکلروزیس، آنفارکتوس ماهیچه قلبی، حملات قلبی، سکته و بیماری‌های عروق مغزی شناخته می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند به غشای سلول‌ها، لیپوپروتئین‌ها و سایر ساختارهای دارای لیپید آسیب بزند. این فرآیند می‌تواند بعدا بر فعالیت نرمال سلول هم اثر بگذارد. بسیاری از بیماری‌های انسانی، مثل سرطان، اسکلروزیس عروقی و پیری مرتبط با پراکسیداسیون لیپیدی هستند.

Momordica charantia یک گیاه بالارونده متعلق به خانواده خیار است که به طور گسترده در جنوب کره استفاده نمی‌شود. اگرچه این گیاه مدت زیادی در بسیاری از کشورها به عنوان غذا و دارو استفاده می‌شده‌است، کشورهایی مثل چین، هند، مالایا و تایلند. در داروهای سنتی چینی و آیورودا (طب سنتی هندی مبتنی بر داروهای سنتی و گیاهی)، Momordica charantia به طور معمول استفاده می‌شود تا قند خون بالا و دیابت را درمان کند. در مطالعات قبلی، گزارش شده‌است که این گیاه، اثری بر پیچیدگی‌های دیابتی دارد، هم چنان که اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی (مثلا ضد HIV)، ضد سقط جنین، ضد باروری، ضد اسهال و ضد مالاریا دارد. همین طور با فعالیت‌های تنظیم کننده ایمنی و اثرات مخرب هم همراه است. در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پر چرب (HFD)، عصاره Momordica charantia خشک و فریز شده، یک رشته ثابت از فیبر باقی می‌ماند. بنابراین، اثر کاهشی سلول‌های چربی از عصاره Momordica charantia ممکن است به صورت گسترده ای در حضور فیبر تغذیه ای صورت بگیرد. برای کاربردهای عملی، Momordica charantia تازه مشکل است زیرا در صورت نگهداری طولانی مدت، طعم تلخی می‌گیرد. در چین، Momordica charantia خشک شده به طور گسترده برای تهیه چای استفاده می‌شود. بنابراین، عصاره آبی و عصاره اتانول از Momordica charantia خشک، در

مطالعه اخیر بررسی شده‌است. هدف این مطالعه این است که اثرات عصاره Momordica charantia را بر چاقی و پروفایل لیپیدی موش‌هایی بررسی کند که با HFD تغذیه شده اند.

مواد و روش‌ها

آماده سازی عصاره

Momordica charantia خشک از مواد غذایی Yangwon خریداری شده‌است. گیاه بدون دانه می‌شود و به پودر تبدیل می‌شود. عصاره آبی(MCA) با جوشاندن 300g از پودر Momordica charantia در 3 لیتر آب به مدت 1 ساعت به دست می‌آید و این کار سه بار تکرار می‌شود. مخلوط با فیلتر کاغذی، فیلتر می‌شود. مواد فیلتر شده تغلیظ می‌شوند، لیوفیلیزه می‌شوند و فریز-خشک می‌شوند. عصاره اتانول(MCE) با مخلوط کردن 300g از پودر Momordica charantia با 3 لیتر از اتانول 70٪ به مدت 3 روز به دست می‌آید. عصاره فیلتر می‌شود و باقی مانده‌های ناخواسته دوباره در شرایط مشابه استخراج می‌شود. مواد باقی مانده روی فیلتر ترکیب می‌شوند، تغلیظ می‌شوند، لیوفیلیزه می‌شوند و خشک و فریز می‌شوند. بازده متوسط به دست آمده از MCA و MCE به ترتیب 30٪ و 23٪ بوده‌است.

مواد شیمیایی

بافر فسفات نمکی(PBS)، بافر HEPES از Biosesang خریداری شده اند. کلروفرم از شرکت Junsei Chemical خریداری شده‌است. متیل الکل از Hyman Limited خریداری شده‌است. همه مواد شیمیایی در درجه آنالیتیکی هستند.

جانوران

موش‌های نر ICR پنج هفته ای از آزمایشگاه حیوانی مرکزی در سئول تهیه شده‌است و در 1_+23 درجه با دوره تاریکی 12 ساعته در طی فرآیند پژوهشی نگهداری می‌شود. موش ICR یک مدل عمومی‌برای هدفی است که برای مطالعاتی استفاده می‌شود که در حوزه‌های مختلف کاربرد دارد مثل سمیت، داروسازی، بازدهی دارو، ایمنولوژی، مسن شدن و تحقیقات مواد غذایی بیوشیمیایی. بعد از یک هفته تجمع، موش‌ها به صورت تصادفی به شش گروه تقسیم می‌شوند که در هر گروه 7 موش وجود دارد. موش‌ها در قفس‌های استیل بدون رنگ نگهداری می‌شوند و همه به آب و مواد غذایی، دسترسی آزادانه دارند. حیوانات در گروه‌های نرمال با یک رژیم غذایی پایه ای تغذیه می‌شوند که دارای 10٪ چربی است و موش‌های سایر گروه‌ها با HFD که دارای 45٪ چربی است، به مدت 7 هفته تغذیه می‌شوند. ترکیبات رژیم‌ها در جدول 1 نشان داده شده‌است.

جدول 1. ترکیبات اجزای محیط کشت

Ingredient	Basal diet (%)	HF diet (%)
Casein, 80 Mesh	19.7	19.7
L-Casein	0.3	0.3
Corn Starch	31.1	7.2
Maltodextrin 10	3.5	9.9
Sucrose	34.5	17.0
Cellulose, BW200	0	0
Soybean Oil	5.5	5.5
Lard	4.4	39.4
DiCalcium Phosphate	0	0
Calcium Carbonate	0	0
PotassiumCitrate H2O	0	0
Vitamin Mix V10001	0	0
Choline Bitartrate	1.0	1.0

HF: high-fat

گروه‌های کنترل نرمال و HFD به صورت دهانی از آب مقطر به مدت 7 روز استفاده می‌کنند. چهار گروه دیگر 0.5g/kg/day، 1.0g/kg/day از MCA و 0.5g/kg/day و 1.0g/kg/day از MCE دریافت می‌کنند. LD50 برای MCE برابر با 362.34 mg/100g وزن بدن است. دوز عصاره Momordica charantia استفاده

شده در مطالعه اخیر کمتر از LD50 است. وزن بدن و جذب مواد غذایی یک بار در هفته اندازه گیری می‌شود. همه فرآیندهای آزمایشگاهی روی حیوانات توسط کمیته استفاده و موسسه دانشگاهی ملی حفاظت از حیوانات در پوسان تایید شده‌است.

جمع آوری نمونه‌ها

در انتهای دوره غذادهی، موش‌ها با استفاده از اتیل اتر بعد از 12 ساعت گرسنگی می‌میرند. نمونه‌های خونی از کانال قدامی‌شکم جمع آوری می‌شوند و به لوله‌هایی برده می‌شوند که دارای سدیم سیترات به عنوان ضد انعقاد است. پلاسما توسط سانتریفوژ در 3000rpm به مدت 20 دقیقه در 4 درجه سانتی گراد جدا می‌شود. پلاسما در 80- درجه سانتی گراد فریز می‌شود تا زمانی که آنالیزهای بعدی روی آن انجام شود. کبد، کلیه، طحال، بیضه‌ها و چربی بیضه‌ها جدا می‌شود و توزین می‌شود. کبد به پنج قسمت تقسیم می‌شود و برای آنالیز در 80-درجه سانتی گراد نگهداری می‌شود. تکه‌های کبد برای آنالیزهای بافت شناسی در فرمالین نگهداری می‌شوند.

سطوح آمینوترانسفراز آسپارتات پلاسما(AST)، آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و انسولین

سطوح AST و ALT در پلاسما با استفاده از کیت‌های تجاری موجود اندازه گیری می‌شود. سطوح انسولین پلاسما با استفاده از کیت الایزا موش اندازه گیری می‌شود.

پروفایل لیپیدی پلاسما

تری گیلیسرید پلاسما(TG)، کلسترول کلی پلاسما (TC) و کلسترول لیپوپروتئین دارای تراکم بالا(HDL-C) با استفاده از کیت‌های تجاری اندازه گیری شده اند. کلسترول لیپوپروتئین دارای تراکم پایین(LDL-C) به شکل زیر محاسبه شده‌است: LDL-C= TC-HDL-C

پروفایل لیپید کبدی

برای اندازه گیری غلظت‌های TG و TC کبدی، بافت‌های کبدی فریز شده با حجم بافر PBS به میزان 10 برابر وزن بافت مخلوط شدند و هموژنیزه شدند. هموژنات کبد در 1600g به مدت 10 دقیقه در 4 درجه سانتی گراد سانتریفوژ می‌شود و سوپرناتانت بر روی یخ برای آنالیز ذخیره می‌شوند. افشره‌های TG و TC در کبد، با استفاده از کیت‌های مشابه اندازه گیری شده اند و روش‌های یکسانی برای آن‌ها مشابه با پلاسما به کار گرفته شده اند.

پراکسید لیپید و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی در کبد

برای تعیین غلظت مالونیل آلدهید کبدی(MDA)، هموژنات کبدی با کیت تجاری موجود آنالیز می‌شود. برای ارزیابی سوپراکسید دسموتاز(SOD)، بافت کبدی فریز شده با حجم بافر HEPES به میزان 10 برابر وزن بافت مخلوط می‌شود و هموژنیزه می‌شود. فعالیت SOD در سوپرناتانت با کیت موجود اندازه گیری می‌شود.

پروفایل لیپید مدفوعی

برای اندازه گیری غلظت TG و TC مدفوعی، مواد مدفوعی فریز و خشک می‌شود و با حجم محلول $CHCl_3$ و MeOH (2:1 v/v) 10 برابر وزن مدفوع مخلوط می‌شوند. بعد از 4 ساعت استخراج، مخلوط در 800g به مدت 20 دقیقه در 4 درجه سانتی گراد سانتریفوژ می‌شود و باقی می‌ماند. سطح TG و TC در مدفوع، با استفاده از کیت‌های مشابهی اندازه گیری می‌شود و روش‌های یکسانی مشابه با آنالیزهای پلاسما و کبد استفاده شده‌است.

آنالیزهای بافت شناسی

نمونه‌های کبد در فرمالین حفظ می‌شود که در پارافین پوشانده شده اند و به بخش‌هایی با اندازه 4 میکرومتر ضخامت تقسیم شدند. سپس، بخش کبد با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ شدند. ویژگی‌های مورفولوژیکی سلول‌های کبدی با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 400 مشاهده شده‌است.

آنالیزهای آماری

همه داده‌ها با استفاده از میانه +_ خطای استاندارد بیان شدند. یک آنالیز یک منظوره از واریانس(ANOVA) با تست چندگانه Duncan انجام شد تا تفاوت‌های اساسی در بین گروه‌ها را تعیین کند. p-valueهای کمتر از 0.05 به عنوان قابل قبول در نظر گرفته شدند. همه آنالیزهای آماری با برنامه SPSS انجام شدند.

نتایج

وزن بدن، جذب مواد غذایی، وزن بافت احشایی

همان طور که در جدول 2 نشان داده شده‌است، وزن اولیه بدن موش‌ها در شش گروه از نظر آماری یکسان است. بعد از 7 هفته از مصرف دهانی، وزن نهایی بدن موش‌ها در گروه HFD، 20.74% در مقایسه با موش‌ها در گروه نرمال بیشتر بود. وزن بدن نهایی در گروه تیمار شده با Momordica charantia به صورت قابل ملاحظه ای کمتر از گروه HFD بود (MCA 0.5, 38.07+_2.07g، MCA1 36.52+_3.82 g، MCE0.5, 35.98+_2.25g و MCE1, 33.62+_2.52g). هیچ تفاوتی در جذب غذا بین موش‌های تیمار شده با Momordica charantia و HFD دیده نشده‌است. اگرچه، جذب مواد غذایی در گروه نرمال به صورت قابل ملاحظه ای از سایر گروه‌ها بیشتر است($P<0.05$).

جدول 2. اثر عصاره Momordica charantia بر روی وزن بدن، جذب مواد غذایی و وزن بافت

Group	Normal	HFD	HFD + *momordica charantia* extracts			
			MCA0.5	MCA1	MCE0.5	MCE1
Initial body weight (g)	26.60 ± 0.86	26.52 ± 0.86	26.73 ± 0.97	26.00 ± 0.66	26.37 ± 0.82	26.50 ± 0.32
Final body weight (g)	36.83 ± 2.84^{ab}	44.47 ± 2.36^{c}	38.07 ± 2.07^{b}	36.52 ± 3.82^{ab}	35.98 ± 2.25^{ab}	33.62 ± 2.52^{a}
Food intake (g)	3.83 ± 0.38^{b}	3.31 ± 0.22^{a}	3.20 ± 0.27^{a}	3.06 ± 0.26^{a}	3.12 ± 0.31^{a}	3.16 ± 0.15^{a}
Liver weight (g/g B.W.)	3.30 ± 0.36^{a}	3.83 ± 0.42^{b}	3.37 ± 0.35^{a}	3.35 ± 0.43^{a}	3.28 ± 0.17^{a}	3.25 ± 0.36^{a}
Kidney weight (g/g B.W.)	1.35 ± 0.08	1.39 ± 0.32	1.37 ± 0.21	1.20 ± 0.19	1.36 ± 0.16	1.35 ± 0.31
Spleen weight (g/g B.W.)	0.25 ± 0.02^{ab}	0.33 ± 0.11^{c}	0.29 ± 0.11^{bc}	0.27 ± 0.06^{bc}	0.24 ± 0.04^{ab}	0.22 ± 0.04^{a}
Testicle weight (g/g B.W.)	0.53 ± 0.18	0.72 ± 0.07	0.67 ± 0.16	0.69 ± 0.16	0.66 ± 0.17	0.53 ± 0.07
Testicle fat weight (g/g B.W.)	2.07 ± 0.77^{ab}	4.10 ± 0.99^{c}	4.00 ± 1.13^{c}	3.35 ± 1.04^{bc}	2.90 ± 1.22^{abc}	1.81 ± 1.34^{a}

Values are presented as mean ± SD (n = 6). The different letters in same line indicate statistically significant difference ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple range test. Tissue weight was expressed as tissue weight (g) × 100/final body weight. HFD: high-fat diet; MCA0.5: *Momordica charantia* aqueous extracts 0.5 g/kg/day; MCA1: *Momordica charantia* aqueous extracts 1 g/kg/day; MCE0.5: *Momordica charantia* ethanol extracts 0.5 g/kg/day; MCE1: *Momordica charantia* ethanol extracts 1 g/kg/day

وزن نسبی کبد و وزن نسبی بیضه‌ها، به طور قابل توجهی بین شش گروه تغییری نمی‌کنند. در عوض، موش‌ها در گروه HFD، وزن کبدی نسبی، وزن طحال نسبی، وزن چربی بیضوی نسبی بالایی در مقایسه با گروه نرمال دارند (P<0.05). وزن‌های نسبی کبد در گروه‌های تیمار شده با Momordica charantia به طور قابل توجهی از گروه‌های HFD پایین تر هستند. وزن نسبی طحال در موش‌های تیمار شده با MCE پایین تر هستند. به علاوه، موش‌ها در گروه‌های MCE1، وزن چربی نسبی پایینی در مقایسه با آن‌هایی که در گروه HFD بودند، دارند (P<0.05 ،4.10+_0.99/100 g/g).

سطوح AST و ALT پلاسما

سطوح AST و ALT به طور معمول استفاده شده‌است تا آسیب کبد را تعیین کند. سطوح پلاسمای AST و ALT در مطالعه اخیر در جدول 3 نشان داده شده‌است. سطوح ALT و AST پلاسمای موش‌ها در موش‌هایی که فقط با HFD تغذیه شده اند، به صورت قابل توجهی نسبت با موش‌هایی در همه گروه‌های نرمال بالاتر بودند. سطوح AST پلاسما در گروه‌های تیمار شده با Momordica charantia به میزان قابل توجهی از گروه HFD، پایین تر است. به علاوه، فعالیت ALT در موش‌های تغذیه شده با دوزهای بالایی از MCA هم به صورت قابل توجهی از گروه HFD پایین تر است.

جدول 3. عصاره Momordica charantia در فعالیت کبد

Group	Normal	HFD	HFD + *Momordica charantia* extracts			
			MCA0.5	MCA1	MCE0.5	MCE1
AST (Karmen unit/ml)	20.97 ± 0.63^{a}	36.17 ± 3.85^{d}	32.40 ± 2.93^{c}	25.38 ± 1.89^{b}	32.26 ± 0.72^{c}	25.53 ± 4.24^{b}
ALT (Karmen unit/ml)	17.39 ± 2.85^{a}	23.61 ± 2.04^{b}	22.96 ± 1.28^{b}	16.60 ± 2.00^{a}	20.36 ± 4.94^{b}	16.75 ± 3.67^{a}

Values are presented as mean ± SD (n = 6). The different letters in same line indicate statistically significant difference ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple range test. HFD: high-fat diet; MCA0.5: *Momordica charantia* aqueous extracts 0.5 g/kg/day; MCA1: *Momordica charantia* aqueous extracts 1 g/kg/day; MCE0.5: *Momordica charantia* ethanol extracts 0.5 g/kg/day; MCE1: *Momordica charantia* ethanol extracts 1 g/kg/day; AST: aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase

جدول 4. اثر عصاره Momordica charantia بر پلاسما، سطوح لیپید مدفوعی و کبدی

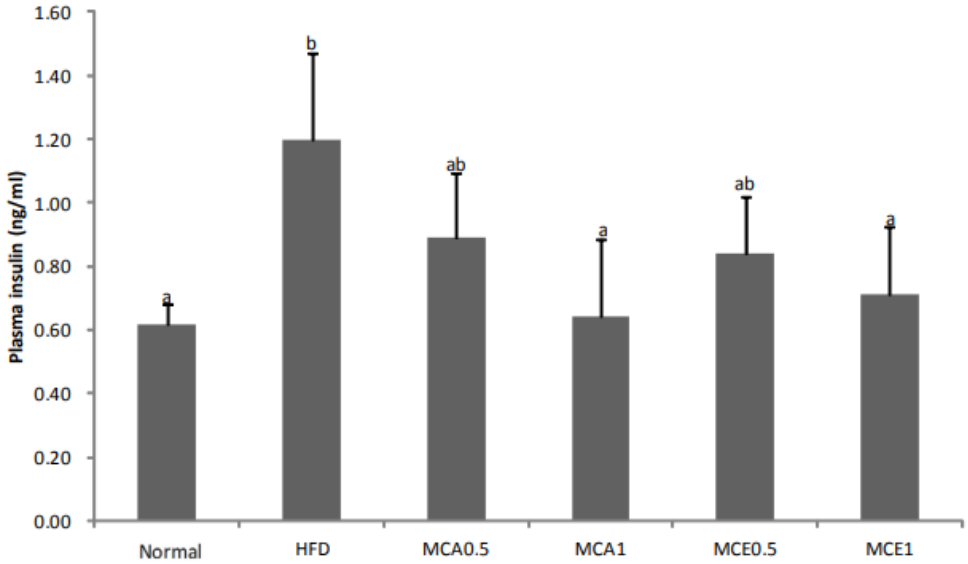
Table 4. Effect of *momordica charantia* extracts on plasma, hepatic and fecal lipid levels

Group	Normal	HFD	HFD + *momordica charantia* extracts			
			MCA0.5	MCA1	MCE0.5	MCE1
In plasma						
TG (mg/dl)	103.38 ± 21.65^{a}	197.02 ± 15.43^{c}	145.84 ± 18.37^{b}	143.96 ± 20.16^{b}	108.84 ± 22.47^{a}	105.41 ± 27.75^{a}
TC (mg/dl)	153.65 ± 15.02^{a}	207.03 ± 11.44^{c}	198.31 ± 25.36^{c}	175.80 ± 19.38^{b}	191.85 ± 26.89^{bc}	154.31 ± 17.06^{a}
HDL-C (mg/dl)	114.12 ± 13.61^{bc}	95.32 ± 7.96^{a}	107.41 ± 9.14^{ab}	102.47 ± 9.82^{ab}	124.93 ± 13.81^{c}	125.70 ± 14.95^{c}
LDL-C (mg/dl)	50.46 ± 4.18^{b}	96.31 ± 12.23^{d}	76.18 ± 13.20^{c}	68.36 ± 11.04^{c}	70.77 ± 10.10^{c}	33.76 ± 2.69^{a}
In liver						
TG (mg/g liver)	9.41 ± 0.49^{ab}	13.27 ± 1.61^{d}	11.42 ± 0.28^{c}	8.69 ± 0.44^{a}	9.50 ± 0.41^{b}	9.16 ± 0.53^{ab}
TC (mg/g liver)	6.45 ± 2.85^{a}	9.07 ± 1.90^{b}	6.72 ± 1.94^{a}	6.12 ± 1.24^{a}	8.51 ± 2.16^{b}	6.85 ± 1.36^{a}
In feces						
TG (mg/g feces)	9.27 ± 0.99^{a}	10.25 ± 2.17^{a}	9.78 ± 1.34^{a}	9.96 ± 1.28^{a}	9.82 ± 0.85^{a}	12.81 ± 2.77^{b}
TC (mg/g feces)	7.87 ± 1.34	7.52 ± 1.12	7.23 ± 1.20	6.81 ± 0.90	7.30 ± 1.08	7.23 ± 0.07

Values are presented as mean ± SD (n = 6). The different letters in same line indicate statistically significant difference ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple range test. HFD: high-fat diet; MCA0.5: *momordica charantia* aqueous extracts 0.5 g/kg/day; MCA1: *momordica charantia* aqueous extracts 1 g/kg/day; MCE0.5: *momordica charantia* ethanol extracts 0.5 g/kg/day; MCE1: *momordica charantia* ethanol extracts 1 g/kg/day; TG: total triglyceride; TC: total cholesterol; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol

سطوح انسولین پلاسما

چاقی با افزایش خطر مقاومت به انسولین مرتبط است. برای مقابله با این مقاومت، انسولین بیشتری تولید می‌شود. بنابراین، سطوح انسولین اندازه گیری می‌شود. سطح انسولین پلاسما برای موش‌های گروه HFD به صورت قابل ملاحظه ای در مقایسه با گروه نرمال، بالاتر است($P<0.05$). سطوح انسولین موش‌های تغذیه شده با دوز بالایی از MCE و MCA در مقایسه با گروه HFD پایین تر است ($P<0.05$) و با سطح گروه نرمال قابل مقایسه است (شکل 1).



شکل 1. اثر عصاره Momordica charantia در انسولین پلاسما. مقادیر در میانگین با انحراف معیار (n=6) نشان داده شده اند. حروف مختلف در بالای میله‌ها نشان می‌دهد که مقادیر میانه به میزان قابل توجهی متفاوت هستند. براساس تست چندگانه Ducan، به دست آمده اند. HFD: رژیم دارای چربی بالا، MCA0.5: رژیم دارای چربی بالا+ عصاره آبی Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day، MCA1: عصاره آبی Momordica charantia+ رژیم دارای مواد غذایی، MCE0.5: رژیم غذایی دارای چربی بالا+ عصاره اتانول Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day. MCE1: عصاره اتانول Momordica charantia به میزان 1g/kg/day.

سطوح لیپید، پلاسما، کبدی و مدفوعی

برای اندازه گیری اثرات عصاره Momordica charantia بر پروفایل لیپیدی، پلاسما، کبدی و سطوح لیپیدی مدفوعی اندازه گیری شده اند. سطوح پلاسمای TG،TC و LDL-C در گروه HFD به صورت قابل ملاحظه ای نسبت به گروه نرمال بالاتر است. سطوح TG پلاسما به صورت قابل ملاحظه ای در گروه HFD بیشتر از گروه نرمال است(197.02+_15.43 mg/dL). به علاوه، سطوح TG پلاسما در گروه‌های تیمار شده با Momordica charantia به صورت قابل ملاحظه ای در مقایسه با گروه HFD پایین تر هستند(103.38+_21.65 mg/dL،

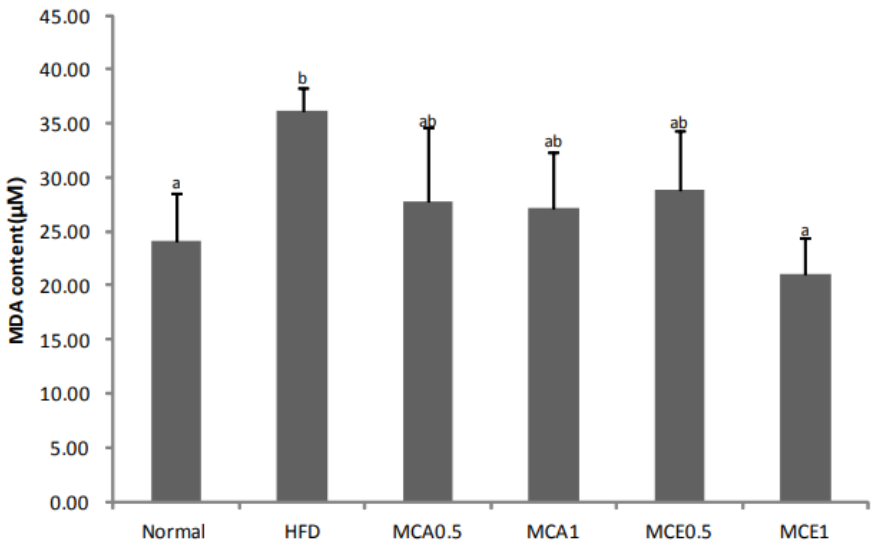
P<0.05). موش‌های تغذیه شده با دوز بالایی از MCA (175.80+_19.38mg/dL) با MCE، دارای سطح TC پلاسمایی کمتری در مقایسه با گروه HFD بودند. تیمار با دوز بالایی از MCE به صورت قابل ملاحظه ای کمتر از غلظت‌های TG پلاسمایی در مقایسه با گروه HFD هستند و این به میزان 185.2٪ است. سطوح HDL-C در موش‌ها در گروه HFD به طور قابل ملاحظه ای از آن‌هایی که در گروه نرمال قرار گرفته اند، کمتر است(114.12+_13.61 mg/dL, P<0.05). به علاوه، موش‌های تیمار شده با MCE دارای سطح بالاتری از HDL-C در مقایسه با گروه HFD هستند (125.70+_14.95 mg/dL).

سطوح TC و TG کبدی برای گروه HFD به طور قابل ملاحظه ای از گروه کنترل بالاتر بودند. همه حیوانات تیمار شده با Momordica charantia، سطوح TG پایین تری نسبت به گروه HFD دارند. سطوح TC کبدی در گروه‌های تیمار شده با دوزهای بالای MCE و MCA، به میزان قابل توجهی در مقایسه با گروه HFD کمتر هستند.

هیچ تفاوت قابل توجهی در سطوح TG مدفوعی بین گروه‌های نرمال و HFD وجود ندارد. اگرچه، سطوح TG مدفوعی در گروه MCE1 به میزان قابل توجهی پایین تر از سایر گروه‌هاست (P<0.05). هیچ تفاوت قابل توجهی در سطوح TC مدفوعی در بین گروه‌ها مشاهده نشده‌است(جدول 4).

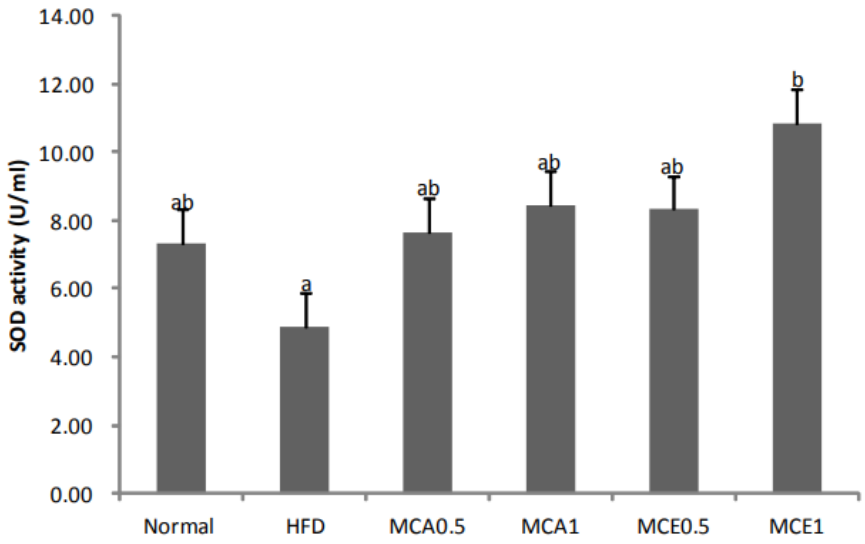
فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی و پراکسید لیپید در کبد

پراکسیداسیون لیپیدی، مکانیسم شناخته شده ای از آسیب سلولی در گیاهان و جانوران است که به عنوان معرفی برای استرس اکسیداتیو در سلول‌ها و بافت‌ها شناخته می‌شود. MDA در تولید پراکسیداسیون لیپید اتفاق می‌افتد. SOD آنزی‌می‌است که دسموتاسیون آنیون سوپراکسید را در اکسیژن مولکولی و پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کند. SOD برای پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو ضروری است. برای تعیین اثرات Momordica charantia در پراکسیداسیون لیپیدی کبد در موش‌ها، سطوح MDA کبدی و SOD تعیین شده‌است. سطوح MDA در کبد در شکل 2 نشان داده شده‌است.



شکل 2. اثر عصاره Momordica charanti در محتویات MDA. هر مقدار توسط میانگین 6 نمونه بیان می‌شود. حروف مختلف بالای میله‌ها، نشان می‌دهد که مقدار میانه به صورت قابل توجهی براساس تست چندگانه Ducan متفاوت است($P<0.05$). HFD: رژیم دارای چربی بالا، MCA0.5: رژیم دارای چربی بالا+ عصاره آبی Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day، MCA1: عصاره آبی Momordica charantia+ رژیم دارای مواد غذایی، MCE0.5: رژیم غذایی دارای چربی بالا+ عصاره اتانول Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day. MCE1: عصاره اتانول Momordica charantia به میزان MDA.1g/kg/day : مالونیل آلدهید.

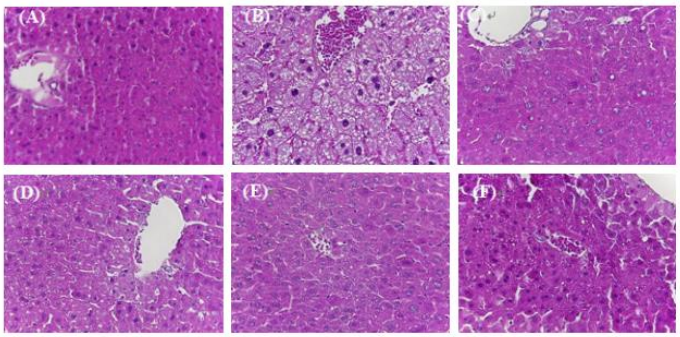
غلظت MDA در گروه HFD به صورت قابل توجهی از گروه نرمال بالاتر است (24.10+_4.44 μM, $P<0.05$). سطح MDA در موش‌هایی که با دوز بالایی از MCE تیمار شده اند، به میزان قابل توجهی برابر با 41.9% کمتر از گروه HFD هستند ($P<0.05$). همان طور که در شکل 3 نشان داده شده‌است، هیچ تفاوت قابل توجهی در مقایسه با نرمال و گروه‌های HFD وجود ندارد. اگرچه، موش‌هایی که دوز بالایی از MCE را دریافت کرده اند، سطح بالایی از فعالیت SOD را در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان می‌دهند($P<0.05$).



شکل 3. اثر عصاره Momordica charanti در فعالیت SOD. هر مقدار توسط میانگین 6 نمونه بیان می‌شود. حروف مختلف بالای میله‌ها، نشان می‌دهد که مقدار میانه به صورت قابل توجهی براساس تست چندگانه Ducan متفاوت است($P<0.05$). HFD: رژیم دارای چربی بالا، MCA0.5: رژیم دارای چربی بالا+ عصاره آبی Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day، MCA1: عصاره آبی Momordica charantia+ رژیم دارای مواد غذایی، MCE0.5: رژیم غذایی دارای چربی بالا+ عصاره اتانول Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day. MCE1: عصاره اتانول Momordica charantia به میزان SOD.1g/kg/day : سوپراکسید دسموتاز.

آنالیزهای بافت شناسی در سلول‌های کبدی

بخش‌های کبدی رنگ شده با H و E در شکل 4 نشان داده شده اند.



شکل 4. اثر عصاره Momordica charanti در تغییرات آسیب بافتی در موش‌های تغذیه شده با رژیم دارای چربی بالا. هر مقدار توسط میانگین 6 نمونه بیان می‌شود. حروف مختلف بالای میله‌ها، نشان می‌دهد که مقدار میانه به صورت قابل توجهی براساس تست چندگانه Ducanمتفاوت است($P<0.05$). HFD: رژیم دارای چربی بالا، MCA0.5: رژیم دارای چربی بالا+ عصاره آبی Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day، MCA1: عصاره آبی Momordica charantia+ رژیم دارای مواد غذایی، MCE0.5: رژیم غذایی دارای چربی بالا+ عصاره اتانول Momordica charantia به میزان 0.5g/kg/day. MCE1: عصاره اتانول Momordica charantia به میزان SOD.1g/kg/day . بزرگنمایی: 400

موش‌ها در گروه نرمال، بافت شناسی نرمالی دارند. هیچ لیپید اضافی در این حیوانات مشاهده نشده‌است. موش‌های گروه HFD، انباشتگی در عروق بزرگ و فراوانی ذرات چربی را نشان می‌دهند که درون سلول‌های پارانشی‌می‌انباشته شده اند. تجزیه لیپید به میزان قابل توجهی در سلول‌های کبدی موش‌های تیمار شده با عصاره‌های Momordica charantia در مقایسه با گروه HFD، مشاهده شده‌است. بافت شناسی کبد در گروه‌های تیمار شده با عصاره مشابه با گروه نرمال است. به طور کلی، آنالیز بافت شناسی نشان می‌دهد که مصرف HFDالقا کننده تجمع لیپید در سلول‌های کبدی است که می‌تواند به صورت موثری از درمان با عصاره Momordica charantia جلوگیری کند.

بحث

Momordica charantia شامل ترکیبات فعال زیستی است که شامل گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، روغن‌های تثبیت کننده، تری ترپن‌ها، پروتئین‌ها و استروئیدهاست. ترکیبات شیمیایی گیاهی مختلفی مثل

موموراکارین، مومووردنول؛ کارانتین، کارین، کریپتوکسانتین، کوکوربیتاسین، سیکلوآرتنول؛ دیوسژنین، الائواستئاریک اسید، اریترودیول، گالاکتورونیک اسید، ژنتیسیک اسید، گویاآگلیکوزوئید، مولتی فلورنول جدا شده اند.

هدف مطالعه اخیر تعیین اثرات عصاره خشک شده Momordica charantia بر چاقی و پروفایل لیپیدی موش‌هایی است که با HFD تغذیه شده اند. ما متوجه شدیم که عصاره‌ها به صورت موثری، دریافت وزن بدن را در موش‌هایی که از HFD تغذیه می‌کنند، مهار می‌کنند. Chen و همکارانش قبلا بررسی کرده اند که آب Momordica charantia دریافت وزن را بدون تاثیر گذاری بر جذب انرژی یا جذب چربی بیشتر، کاهش می‌دهند. در بررسی‌های اخیر، موش‌های تیمار شده با عصاره Momordica charantia هم وزن نسبی کبدی، وزن طحال و وزن چربی بیضوی کمتری نسبت به گروه HFD داشتند. به علاوه، مشخص شده‌است که Momordica charantia هم چنین افزایش القا شده توسط HFD را در وزن کبد مهار می‌کند. که در مطالعه ای توسط Shih و همکاران نشان داده شده‌است. تیمار Momordica charantia در سلول‌های قبل از چربی 3T3-L1 منجر به کاهش در تجمع چربی می‌شوند و بیان پذیرنده γ که فعال کننده تکثیر پری اکسیزوم هستند، به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. بنابراین عصاره Momordica charantia جذب وزن بدن را کاهش می‌دهد که ممکن است به دلیل کاهش در بیان PRAPγ و کاهش در تجمع لیپید باشد.

ما هم چنین متوجه شدیم که سطوح انسولین در موش‌های تیمار شده با دوزهای بالا از MCE و MCA کمتر از مقداری است که در گروه‌های HFD دیده شده اند. هم چنین در مقایسه با سطوح گروه نرمال کمتر است. پتانسیل هیپوگلایس‌می‌در Momordica charantia در موش‌های نرمال و دیابتی یا انسان‌هایی با دیابت نوع 2 قبلا گزارش شده‌است. این گیاه ممکن است تعداد سلول‌های مثبت انسولین در پانکراس را افزایش دهد و مقاومت انسولین را بهبود بخشد.

در مطالعه ما، مصرف Momordica charantia به طور قابل توجهی سطوح پلاسمای TG، TC و LDL-C را همراه با غلظت‌های TG و TC کبدی در موش‌های تغذیه شده با HFD کاهش می‌دهد. تیمار با عصاره‌ها، هم چنین سطوح HDL-C پلاسمایی و غلظت TG مدفوعی را در گیاهان با HFD بالا می‌برند. این یافته‌ها نشان

می‌دهد که عصاره‌های Momordica charantia می‌تواند پروفایل لیپیدی و متابولیسم لیپیدی را بهبود بخشد. نتایج مشابهی هم در مطالعات قبلی به دست آمده است، عصاره‌های Momordica charantia هم چنین مشخص شده‌است که کلسترول سرم را همراه با TC و TG کبدی در موش‌های نرمال کاهش می‌دهند، در حالی که HDL-C را در موش‌های دیابتی تیمار شده با استرپتوزوتوسین افزایش می‌دهند. در بررسی‌های فعلی، موش‌های تیمار شده با عصاره Momordica charantia، محتوای MDA پایین تر و فعالیت SOD بالاتر از گروه HFD نشان داده است که عصاره‌ها می‌تواند به طور قابل توجهی، پراکسیداسیون لیپیدی را مهار کند. عصاره‌های Momordica charantia دارای آنتی اکسیدان‌های قوی و فعالیت‌های به دام انداز رادیکال‌های آزاد هستند. این فعالیت‌های آنتی اکسیدانی می‌تواند مورد بررسی قرار بگیرد، حداقل به صورت جزئی، تا اثر عصاره‌های Momordica charantia بر مهار پراکسیداسیون لیپیدی مشخص شود.

هیچ تفاوت آشکاری بین گروه‌های تیمار شده با MCA و MCE در کل مشاهده نشده‌است. اما سطح TG پلاسما در گروه‌های تیمار شده با MCE به طور قابل ملاحظه ای در مقایسه با گروه‌های تیمار شده با MCA کمتر است و سطح TC پلاسما و LDL-C در گروه MCE1 کمتر از گروهی است که با MCA تیمار شده اند. موش‌های تیمار شده با MCA پلاسمایی هم چنین دارای سطح HDL_C بالاتری در مقایسه با گروه‌هایی هستند که با MCE تیمار شده اند. بنابراین گروه‌های تیمار شده با MCE، شاهد اثر بهتری بر پروفایل چربی پلاسمایی موش‌هایی دارد که با رژیم غذایی دارای چربی بالا تغذیه شده اند.

در نتیجه، ما متوجه شدیم که عصاره‌های Momordica charantia، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی in vitro بالقوه هستند. به علاوه، عصاره‌ها دارای اثرات ضد چاقی هستند و می‌توانند پروفایل اثر بهبود دهنده لیپیدی را در موش‌هایی که با HFD تغذیه شده اند، بهبود بخشند و این کار را با مهار وزن بدن، کاهش غلظت لیپید کبدی و پلاسمایی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش متابولیسم لیپیدی انجام می‌دهند.

REFERENCES

1. Haththotuwa RN, Wijeyaratne CN, Senarath U. Worldwide epidemic of obesity. In: Mahmood T, Arulkumaran S, editors. Obesity: A Ticking Time Bomb for Reproductive Health. London: Elsevier; 2013. p.4-10.
2. Yoon KH, Lee JH, Kim JW, Cho JH, Choi YH, Ko SH, Zimmet P, Son HY. Epidemic obesity and type 2 diabetes in Asia. Lancet 2006;368:1681-8.
3. Oh SW. Obesity and metabolic syndrome in Korea. Diabetes Metab J 2011;35:561-6.
4. Wu YF, Ma GS, Hu YH, Li YP, Li X, Cui ZH, Chen CM, Kong LZ. The current prevalence status of body overweight and obesity in China: data from the China National Nutrition and Health Survey. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi 2005;39:316-20.
5. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:2595-600.
6. Parikh NH, Parikh PK, Kothari C. Indigenous plant medicines for health care: treatment of Diabetes mellitus and hyperlipidemia. Chin J Nat Med 2014;12:335-44.
7. Liao CC, Su TC, Chien KL, Wang JK, Chiang CC, Lin CC, Lin RS, Lee YT, Sung FC. Elevated blood pressure, obesity, and hyperlipidemia. J Pediatr 2009;155:79-83, 83.e1.
8. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr 1993;57:715S-724S.
9. Abd El Sattar El Batran S, El-Gengaihi SE, El Shabrawy OA. Some toxicological studies of Momordica charantia L. on albino rats in normal and alloxan diabetic rats. J Ethnopharmacol 2006;108: 236-42.
10. Ahmed I, Lakhani MS, Gillett M, John A, Raza H. Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic Momordica charantia (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes Res Clin Pract 2001;51:155-61.
11. Grover JK, Yadav SP. Pharmacological actions and potential uses of Momordica charantia: a review. J Ethnopharmacol 2004;93: 123-32.
12. Chen Q, Chan LL, Li ET. Bitter melon (Momordica charantia) reduces adiposity, lowers serum insulin and normalizes glucose tolerance in rats fed a high fat diet. J Nutr 2003;133:1088-93.
13. Park SH, Ko SK, Chung SH. Euonymus alatus prevents the hyperglycemia and hyperlipidemia induced by high-fat diet in ICR mice. J Ethnopharmacol 2005;102:326-35.
14. Xu SP, Mao XY, Cheng X, Chen B. Ameliorating effects of casein glycomacropeptide on obesity induced by high-fat diet in male Sprague-Dawley rats. Food Chem Toxicol 2013;56:1-7.
15. M'Kada H, Munteanu M, Perazzo H, Ngo Y, Ramanujam N, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Bonnefont-Rousselot D, Souberbielle B, Schuppe-Koistinen I, Poynard T; DILI group of the SAFE-T consortium. What are the best reference values for a normal serum alanine transaminase activity (ALT)? Impact on the presumed prevalence of drug induced liver injury (DILI). Regul Toxicol Pharmacol 2011; 60:290-5.
16. Yagi K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. Methods Mol Biol 1998;108:101-6.
17. Armstrong D, Browne R. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress asapplied to the clinical chemistry laboratory. In: Armstrong D, editor. Free Radicals in Diagnostic Medicine: A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy. New York (NY): Plenum Press; 1994. p.43-58.
18. Malmstrom BG, Andreasson LE, Reinhammar B. Copper-containing oxidases and superoxide dismutase. In: Boyer PD, editor. The Enzymes. New York (NY): Academic Press; 1975. p.533.
19. Shih CC, Lin CH, Lin WL. Effects of Momordica charantia on insulin resistance and visceral obesity in mice on high-fat diet. Diabetes Res Clin Pract 2008;81:134-43.
20. Popovich DG, Li L, Zhang W. Bitter melon (Momordica charantia) triterpenoid extract reduces preadipocyte viability, lipid accumulation and adiponectin expression in 3T3-L1 cells. Food Chem Toxicol 2010;48:1619-26.

21. Srivastava Y, Venkatakrishna-Bhatt H, Verma Y. Effect of Momordica charantia Linn. pomous aqueous extract on cataractogenesis in murrin alloxan diabetics. Pharmacol Res Commun 1988;20:201-9.
22. Akhtar MS, Athar MA, Yaqub M. Effect of Momordica charantia on blood glucose level of normal and alloxan-diabetic rabbits. Planta Med 1981;42:205-12.
23. Srivastava Y, Venkatakrishna-Bhatt H, Verma Y, Venkaiah K, Raval BH. Antidiabetic and adaptogenic properties of Momordica charantia extract: an experimental and clinical evaluation. Phytother Res 1993;7:285-9.
24. Ahmed I, Adeghate E, Sharma AK, Pallot DJ, Singh J. Effects of Momordica charantia fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat. Diabetes Res Clin Pract 1998;40: 145-51.
25. Leatherdale BA, Panesar RK, Singh G, Atkins TW, Bailey CJ, Bignell AH. Improvement in glucose tolerance due to Momordica charantia (karela). Br Med J (Clin Res Ed) 1981;282:1823-4.
26. Jayasooriya AP, Sakono M, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K, Fukuda N. Effects of Momordica charantia powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. J Ethnopharmacol 2000;72:331-6.
27. Wu SJ, Ng LT. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (Momordica charantia Linn. var. abbreviata Ser.) in Taiwan. Lebenson Wiss Technol 2008;41:323-30.