

ارزیابی پروفایل بیوشیمیایی سرم در استفاده از ترب سیاه (*Raphanus sativus*) در موش

سیده ام البنین قاسمیان^۱، مریم کریمی دهکردی^۲، علی مداحی نژاد^۳، هومن یوسفی^۳

۱- استادیار گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. نویسنده مسئول:

Ma_karimivet58@yahoo.com

۳- دانشجوی دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به وجود ترکیبات فعال در ترب سیاه و همچنین بومی بودن این گیاه در کشور ایران، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر عصاره هیدروالکلی ترب سیاه بر عملکرد کبد و کلیه در موش کوچک آزمایشگاهی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ موش سفید کوچک آزمایشگاهی به طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی: گروه کنترل و سه گروه آزمایشی (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر عصاره ترب سیاه) تقسیم شدند. در گروه‌های آزمایشی تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ترب سیاه صورت گرفت. در روز بیست و یکم، موش‌ها بیهوش شده و سپس خون‌گیری انجام شد. میزان نیترژن اوره خون (BUN)، کراتینین، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، تری گلیسیرید و کلسترول بین گروه‌ها مقایسه شد.

نتایج: سطح BUN، کراتینین، ALP، AST و ALT در گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$). تیمار با عصاره ترب، منجر به کاهش پروفایل‌های چربی در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل گردید. با افزایش دوز عصاره، میزان تری گلیسیرید کاهش یافت. این کاهش در بالاترین دوز (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنی‌دار بود ($P < 0/05$). علاوه بر این، عصاره ترب سیاه منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول در هر سه دوز در مقایسه با گروه کنترل شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر حاکی از عدم سمیت کبدی و کلیوی عصاره در دوزهای مصرفی در مطالعه می‌باشد. همچنین می‌توان گفت در شرایط فیزیولوژیک، استفاده از عصاره هیدروالکلی ترب سیاه باعث کاهش پروفایل چربی می‌شود.

کلمات کلیدی: ترب سیاه، عصاره هیدروالکلی، عملکرد کبد، عملکرد کلیه، پروفایل چربی

مقدمه

امروزه، داروهای گیاهی به عنوان داروهای مفید و منبعی برای توسعه داروها مورد توجه قرار گرفته‌اند. ترب سیاه با نام علمی *Raphanus sativus L. var niger*، نوعی تربچه زمستانه متعلق به خانواده Brassicaceae با ریشه‌های گرد و پوست سیاه رنگ است که طی سالیان در طب سنتی کشورهای مختلف و خصوصا کشورهای آسیایی مورد استفاده قرار گرفته است. این گیاه به طور گسترده در مناطق گرم و نیمه گرمسیری ژاپن، کره، آسیای جنوب شرقی و کشورهای اروپایی به عمل می‌آید (۱) ترب سیاه حاوی پروتئین، مواد معدنی و اجزای شیمیایی متنوعی می‌باشد (۲). اثرات بیولوژیکی ترب سیاه به ماده موثره آن از جمله آنتوسیانین، پلی فنل‌ها، گلوکوزینولات و متابولیت آن، ایزوتیوسیانات نسبت داده شده است که دارای اثرات آنتی اکسیدانی می‌باشند (۳). این گیاه برای درمان برخی بیماریها نظیر اختلالات متابولیک شامل افزایش چربی خون، اختلالات تنفسی، مشکلات گوارشی و اختلالات سیستم ادراری استفاده می‌شود (۴-۶). ترب سیاه به شکل اتانول یا عصاره آبی جهت مصرف دارویی تهیه می‌شود (۱۱). به غیر از موارد ذکر شده، تخمیر ترب سیاه با استفاده از میکروارگانسیم‌های گونه‌های لاکتوباسیلوس برای تفکیک و آزادسازی مواد فعال زیستی، مورد استفاده قرار گرفته است (۷، ۸).

استفاده از مدل‌های حیوانی برای ارزیابی اثربخشی عصاره‌های گیاهی ترب سیاه و تاثیر آن بر آسیب کبدی رایج است چرا که می‌توان در مدل‌ها حیوانی ضایعاتی با ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک و بیوشیمیایی مشابه ضایعات سلولی موجود در بیماری کبد در انسان ایجاد کرد. اخیرا، برخی شواهد حاکی از اثرات محافظتی عصاره خام ترب بر معده در موش‌های صحرائی با آسیب معده ناشی از اتانول بوده است (۹). همچنین، این ماده دارای اثر پیشگیرانه (اثرات آنتی

اکسیدانی) در برابر ارزیابی‌های ایمونوتوکسیک و بیوشیمیایی ناشی از کادمیوم در موش می‌باشد (۱۰، ۱۱). برخی شواهد نشان داده است که عصاره الکلی ترب سیاه می‌تواند فیبروز ریوی ناشی از داروی بلنومایسین (Bleomycin) را از طریق کاهش سطح فاکتور رشد تغییردهنده بتا (Transforming growth factor β ; TGF- β) تضعیف کند (۱۲). همچنین، عصاره آبی ترب سیاه منجر به تحریک آنزیم‌های سم‌زدایی در رده سلولی هپاتوم انسانی (HepG2) می‌گردد (۱۳). علاوه بر این، 4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate، ماده موثره‌ی موجود در تربچه، به کاهش شدت بیماری کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها منجر می‌گردد که نشان می‌دهد ایزوتیوسیانات‌ها در محافظت از کبد نقش دارند (۱۴).

استرس اکسیداتیو یکی از علل شایع تغییرات چربی در کبد است. برخی یافته‌ها حاکی از اثر محافظتی تربچه سفید در برابر حمله تتراکلرید کربن (CCl_4) بوسیله مایکوتوکسین زیرالنون به کبد می‌باشند (۶، ۱۵). همچنین، عصاره الکلی و آبی ترب سیاه می‌تواند در محافظت از کبد در آسیب کبدی ناشی از CCl_4 کمک کننده باشند (۱۶). با این حال، اطلاعات کمی در مورد اثرات محافظ کبدی ترب سیاه بر فاکتورهای کبدی در موش‌های سالم وجود دارد. از آنجایی که برخی شواهد ظرفیت آنتی اکسیدانی و محافظتی موجود در گیاه ترب سیاه و دیگر اعضای این خانواده را در محافظت از کبد مورد تایید قرار داده‌اند و با توجه به انحصاری بودن این گیاه در کشور ایران، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر عصاره هیدروالکلی ترب سیاه و بررسی اثرات جانبی و سمی احتمالی این گیاه بر عملکرد کبد و کلیه در موش کوچک آزمایشگاهی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

برای بررسی سمیت کبدی و کلیوی عصاره ترب سیاه، ۴۰ عدد موش سفید کوچک آزمایشگاهی به چهار گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. نحوه اختصاص نمونه به هر گروه به طور تصادفی صورت گرفت. دسته اول به عنوان گروه کنترل، تحت هیچ درمانی قرار نگرفته و فقط به آب و غذا دسترسی داشتند. سایر گروه‌ها عبارت بودند از گروه آزمایش اول (۵۰ میلی‌گرم عصاره ترب سیاه بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه آزمایش دوم (۱۰۰ میلی‌گرم عصاره ترب سیاه بر کیلوگرم وزن بدن) و گروه آزمایش سوم (۱۵۰ میلی‌گرم عصاره ترب سیاه بر کیلوگرم وزن بدن). در همه گروه‌های آزمایشی نحوه تجویز عصاره هیدرو الکلی ترب سیاه تزریق داخل صفاقی بود.

زمان خونگیری و جداسازی نمونه‌ها

موشهای آزمایشگاهی بعد از ۲۰ روز یعنی در روز بیست و یکم پس از توزین بیهوش شده و سپس خون گیری از ورید کاروتید گردن انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد جمع‌آوری و جهت جداسازی سرم و ارزیابی آزمایشگاهی به آزمایشگاه تشخیص طبی ارسال شد. سرانجام میزان نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، تری گلیسیرید و کلسترول در سرم خون اندازه گیری و بین گروه‌ها مقایسه شد.

تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ارائه شد. گروه‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی دانشجو-نیومن-کولز (Student-Newman-Keuls) مقایسه شدند. در همه موارد، $p < 0.05$ برای نشان دادن معنی داری در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه ۴۰ موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر نژاد بلب سی مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه مورد مطالعه از انستیتو وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد تهیه شدند. حیوانات در دمای کنترل شده ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتیگراد تحت چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به طور آزاد با یک رژیم غذایی استاندارد تغذیه شدند. تمام مراحل آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه آزاد شهر کرد، ایران انجام شد.

تهیه عصاره هیدرو الکلی ترب سیاه

جهت تهیه عصاره هیدرو الکلی ترب سیاه، ابتدا ترب‌ها از بازار تهیه شدند و سپس توسط هرباریوم دانشگاه آزاد شهر کرد شناسایی و مورد تایید قرار گرفتند. عصاره هیدرو الکلی ترب سیاه با دستگاه استخراج سوکسله تهیه شد (ساخت شرکت اشک شیشه، ایران) که در آن ماده جامد و حلال در تماس مستقیم باهم قرار دارند. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (جهت مطالعات بیولوژیکی) صورت گرفت. با توجه به اینکه مواد موثره نسبت به دما، حساس است و حرارت باعث از بین رفتن آنها می‌شود، در مطالعاتی که هدف تحقیقات بیولوژیکی بوده (استفاده از عصاره به عنوان دارو) و کیفیت و درصد مواد موثره مهم می‌باشد، این روش انجام شد. در این مطالعه حجم مشخصی از گیاه بعد از خشک و آسیاب شدن، به حجم متناسبی از حلال اضافه شد و در آن غوطه‌ور گردید. جهت تهیه حلال مورد استفاده، اتانول ۷۰ درصد آب ۳۰ درصد عصاره هیدرو الکلی بکار رفت. برای مدتی مشخص (۳ روز) مخلوط در دمای اتاق تحت همزدن نگهداری شد. در نهایت توسط سیستم صافی، عصاره جداسازی شده و به صورت تغلیظ‌شده بسته بندی گردید.

گروه‌های مورد مطالعه

یک نمایش داده شده است. یافته‌ها حاکی از آن بود که میانگین سطح BUN در گروه کنترل با هیچ یک از گروه‌های آزمایشی دریافت کننده‌ی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره ترب سیاه تفاوت معنی‌داری نداشت ($P < 0.05$). همچنین، میانگین سطح کراتینین در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری با گروه‌های آزمایشی دریافت کننده‌ی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره ترب سیاه نداشت ($P < 0.05$). بررسی میانگین سطح ALP، AST و ALT نیز در گروه کنترل در مقایسه با گروه‌های آزمایشی حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار سطح آنزیم‌های کبدی بین گروه‌های مطالعه بود ($P < 0.05$).

همه‌ی مراحل نگهداری موش‌ها با توجه به ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی شهر کرد، ایران انجام شدند.

نتایج

در این مطالعه، ۴۰ موش سفید کوچک آزمایشگاهی به چهار گروه ۱۰ نفره کنترل، دریافت کننده‌ی ۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر عصاره ترب سیاه (گروه آزمایش اول)، دریافت کننده‌ی ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ترب سیاه (گروه آزمایش دوم) و دریافت کننده‌ی (۱۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ترب سیاه (گروه آزمایش سوم) تقسیم شدند. میانگین سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم در گروه‌های مختلف در جدول

جدول ۱- تاثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم در موش ماده نژاد Balb/c (میانگین±انحراف معیار)

پارامتر بیوشیمیایی	گروه کنترل	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
BUN (mg/dl)	۲۲/۹±۸/۶ ^a	۲۷/۳±۶/۶ ^a	۲۰/۵±۷/۵ ^a	۱۵/۷±۷/۱ ^a
کراتینین (mg/dl)	۰/۴۷±۰/۱۵ ^a	۰/۶±۰/۱۳ ^a	۰/۴۷±۰/۱۵ ^a	۰/۴۳±۰/۱۶ ^a
آلکالین فسفاتاز (IU/l)	۱۸۰/۸±۱۱/۳ ^a	۱۸۳/۳±۱۲/۶ ^a	۱۸۶±۱۳/۳ ^a	۱۹۰/۵±۱۲/۷ ^a
آسپاراتات آمینوترانسفراز (IU/l)	۳۱۲/۴±۲۷/۱ ^a	۳۲۳/۹±۹/۱ ^a	۳۲۱/۵±۱۹/۲ ^a	۳۳۵/۷±۱۸/۳ ^a
آلانین آمینوترانسفراز (IU/l)	۱۵۰±۵/۸ ^a	۱۵۲/۹±۶/۳ ^a	۱۵۸/۲±۶/۵ ^a	۱۶۵/۳±۴/۵ ^a
تری گلیسیرید (mg/dl)	۶۰±۲/۷ ^a	۵۵/۷±۱/۳ ^a	۵۵/۳±۲/۳ ^a	۴۹/۸±۲/۳ ^b
کلسترول (mg/dl)	۵۲/۲±۴/۳ ^a	۴۱/۲±۵ ^b	۴۳/۴±۳/۴ ^b	۴۱/۳±۱/۵ ^b

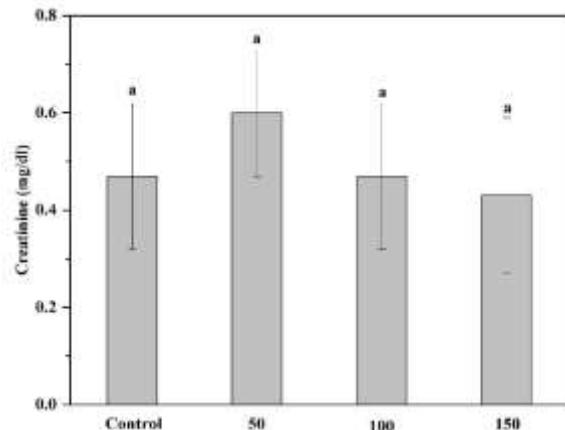
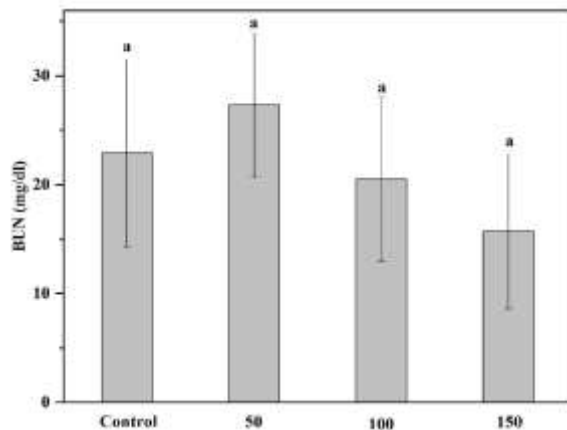
کنترل: عصاره دریافت نکردند، ۵۰: دریافت عصاره ترب سیاه به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، ۱۰۰: دریافت عصاره به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، ۱۵۰: دریافت عصاره به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن. حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین هر دو گروه می‌باشد ($P < 0.05$).

دریافت کننده‌ی ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی ترب سیاه مشاهده شد، به طوری که این میزان در گروه کنترل، بیش از گروه آزمایشی دریافت کننده‌ی ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی ترب سیاه برآورد شد ($P < 0.05$). دیگر نتایج حاکی از آن بود که میانگین سطح کلسترول در گروه کنترل

مقایسه میانگین تری گلیسیرید در گروه کنترل با گروه‌های آزمایشی دریافت کننده‌ی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی ترب سیاه حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار سطح تری گلیسیرید بین گروه‌ها بود. با این حال تفاوت معنی‌داری بین سطح تری گلیسیرید بین گروه کنترل و گروه آزمایشی

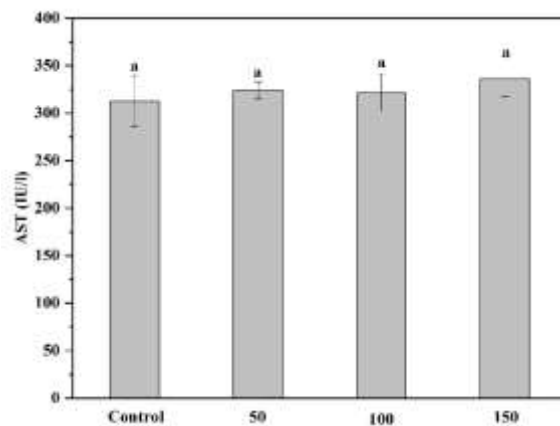
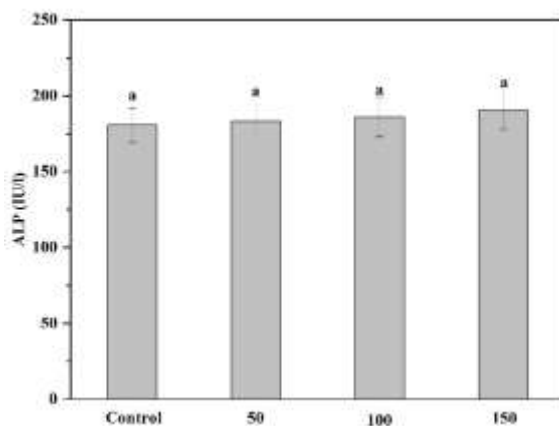
ترب سیاه بود ($P < 0.05$).

به طور معنی‌داری بیشتر از میزان آن در هر سه گروه آزمایشی دریافت کننده ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره



نمودار ۱- تأثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر ازت اوره خون (BUN) و کراتینین سرم (Creatinine).

حروف لاتین متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین هر دو گروه می باشد ($p < 0.05$).



نمودار ۲- تأثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST).

حروف لاتین متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین هر دو گروه می باشد ($p < 0.05$).

منفی احتمالی بر بافت کبد استفاده می‌شود. در این مطالعه،

تفاوت معنی‌داری در غلظت آنزیم‌های کبدی در گروه‌های تیمار (دریافت کننده عصاره با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم)، نسبت به گروه کنترل دیده نشد.

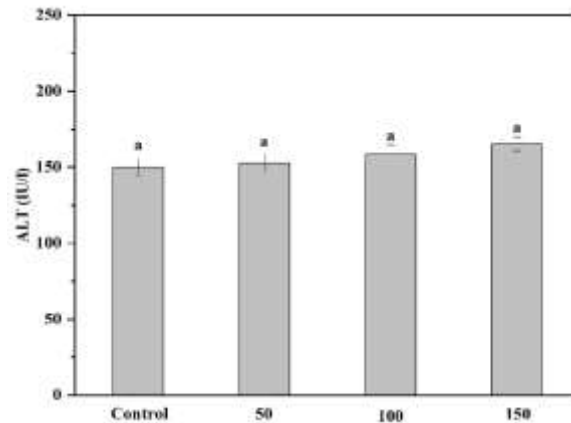
عدم افزایش آنزیم‌های کبدی بعد از تزریق عصاره، نشان دهنده عدم وجود اثرات سمی و مضر عصاره بر روی عملکرد کبدی می‌باشد. در یک مطالعه مشابه توسط Kim و همکاران (۲۰۰۴) که با هدف تعیین اثر بخشی ترب سیاه

بحث

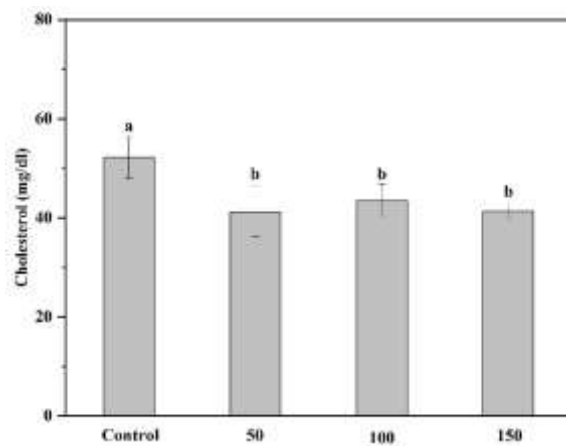
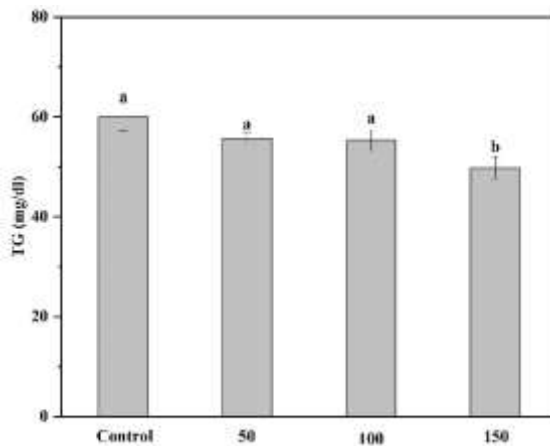
مطالعه حاضر به بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ترب سیاه بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم در ارتباط با عملکرد کبد و کلیه در موش پرداخته است. مشخصات و اجزای بیوشیمیایی خون شاخص‌های مهم سلامت بافتی در نظر گرفته می‌شوند. فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، ALP معمولاً در پاسخ به قرار گرفتن در معرض آلاینده‌ها و مواد شیمیایی سمی افزایش می‌یابد و از آنها برای ارزیابی تأثیر

آمینوترانسفراز در موش‌های صحرایی در معرض CCl₄ می‌گردد. علاوه بر این، ترب سیاه تخمیر شده به طور قابل توجهی اثرات مہار رادیکال را در کبد با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در موش افزایش داد.

تخمیر شده بر آسیب کبدی ناشی از CCl₄ در موش صحرایی صورت گرفته است، یافته‌ها حاکی از این بود که ترب سیاه تخمیر شده (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) منجر به کاهش سطح آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات



نمودار ۳- تأثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) حروف لاتین متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین هر دو گروه می باشد ($p < 0.05$).



نمودار ۴- تأثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر تری گلیسیرید (TG) و کلسترول (Cholesterol) حروف لاتین متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین هر دو گروه می باشد ($p < 0.05$).

پارامترهای بیوشیمیایی در موش‌های سالمی که عصاره هیدروالکلی ترب سیاه را دریافت کرده بودند با موش‌هایی که هیچ دارویی دریافت نکرده بودند مقایسه شد. بنابراین یافته‌های مطالعه مذکور، می‌تواند تاییدی بر یافته‌های مطالعه حاضر باشد.

پراکسیداسیون لیپید نشانگر مرگ سلولی است (۱۷). تتراکلرید کربن (CCl₄) به عنوان یک ماده شیمیایی

یافته‌های هیستوپاتولوژیک از جمله فعال‌سازی سلول‌های کوپفر در کبد در هر گروه با نتایج سرمی مطابقت داشت. در مجموع، آنها نتیجه گرفتند که ترب سیاه تخمیر شده از طریق آنتی اکسیداسیون اثرات محافظتی بر کبد در آسیب ناشی از CCl₄ در موش‌ها اعمال می‌کند (۱۱). در مطالعه Kim و همکاران (۲۰۰۴)، نمونه‌ها دچار آسیب کبدی ناشی از CCl₄ بودند درحالی که در مطالعه ما تنها سطح

گلوکوزینولات‌ها با تعدادی از مکانیسم‌های متمایز پیشگیری از سرطان مرتبط است، از جمله القای ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و سم‌زدایی از طریق فعال‌سازی فاکتور شبه هسته‌ای ۲ مشتق از اریثروئید و گیرنده‌های هیدروکربنی آریل، مهار واکنش‌های پیش‌التهابی با سرکوب هسته‌ای. با ترب سیاه اسپانیایی، گلوکورافازاتین به راسفازاتین متابولیزه می‌شود (۲۲). مطالعه آزمایشگاهی سلول‌های HepG2 هیپاتوم انسانی نشان داده است که راسفازاتین بیان RNA چندین آنزیم کبدی را القا می‌کند (۱۳). با وجود شواهد مزایای ترب سیاه بر عملکرد کبد، تحقیقات بیشتر هنوز مورد نیاز است. در نتایج مشخص گردید که تزریق عصاره هیدروالکلی ترب سیاه در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم تأثیری بر سطح تری-گلیسیرید نداشت، در حالی که تزریق آن در دوز ۱۵۰ میلی-گرم منجر به کاهش معنی‌دار سطح تری گلیسیرید گردید. علاوه بر این عصاره گیاهی ترب سیاه در هر سه دوز، حتی در پایین‌ترین دوز مصرفی (۵۰ میلی‌گرم)، توانست سطح کلسترول خون را به طور چشمگیری نسبت به گروه کنترل کاهش دهد. کاهش پروفایل لیپیدی در گروه‌های تحت تیمار با عصاره ترب سیاه، تأییدی بر اثرات مفید و مثبت عصاره ترب سیاه در کاهش میزان چربی خون در شرایط فیزیولوژیک می‌باشد و احتمالاً در موارد هایپرلیپیدمی نیز می‌تواند در کاهش چربی خون موثر باشد. طبق مشاهدات Hertog و همکاران (۱۹۹۲)، ریشه تربچه حاوی ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم فلاونوئید است که شامل کورستین و میریستین می‌باشد. این ترکیبات نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید از طریق فرآیندهای آنتی‌اکسیدانی مستقیم و اصلاح چندین فعالیت آنزیمی دارند (۲۳). آنتی‌اکسیدان‌ها هیدروژن را در اختیار رادیکال‌های آزاد قرار می‌دهند. این تبدیل منجر به گونه‌های غیر رادیکال و در نتیجه مهار فاز تکثیر اکسیداسیون لیپید می‌شود (۲۴). اگرچه مکانیسم دقیق ترکیبات فعال بیولوژیکی

اکسیداتیو برای القای آسیب کبدی در حیوانات از طریق اکسیداسیون و فعال‌سازی سلول‌های کوپفر معرفی شده است که تجویز داخل صفاقی آن در موش‌ها، منجر به ایجاد آسیب اکسیداتیو در کبد با تغییرات چربی می‌گردد (۸). Kim و همکاران نشان دادند که مالون دی‌آلدئید (MDA) در کبد موش‌های کنترل بسیار پایین بود، در حالی که قرار گرفتن در معرض CCl₄ سطح MDA را در کبد افزایش داد که نشان می‌دهد CCl₄ پراکسیداسیون لیپیدی را در غشای سلولی تحریک می‌کند و منجر به مرگ سلولی می‌شود. به نظر می‌رسد که اجزای آنتی‌اکسیداتیو موجود در ترب سیاه در هر سه روش تخمیر شده (۱۸)، عصاره الکلی تربچه (۶) و تربچه سفید هضم شده با پروتاز (۱۵) در محافظت از سلول‌های کبدی در معرض حمله اکسیداتیو نقش دارند. به این دلیل که تربچه با یا بدون رنگ حاوی انواع مواد فعال زیستی از جمله آنتوسیانین‌ها، پلی‌فنول‌ها، ایزوتیوسیانات‌ها و کورستین است (۱۶، ۱۹). یک مطالعه توسط Evans و همکاران (۲۰۱۴)، شواهدی را در انسان ارائه می‌کند که نشان می‌دهد مکمل حاوی ترب سیاه اسپانیایی تأثیر مثبتی بر سم‌زدایی دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرمی استامینوفن دارد، که نشان‌دهنده افزایش تنظیم آنزیم‌های فاز I و فاز II است که می‌تواند از سلول‌های کبدی محافظت کند (۲۰). داده‌های قوی وجود دارد که سبزیجات کروسیفرس (Cruciferae) با پیامدهای سلامتی مانند کاهش خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف مرتبط می‌کند (۲۱). ترب سیاه اسپانیایی متعلق به خانواده Cruciferae است و حاوی غلظت بالایی از گلوکوزینولات‌ها، به ویژه گلوکورافازاتین است که بیش از ۶۵ درصد از کل گلوکوزینولات‌های موجود را تشکیل می‌دهد (۱۳). تصور می‌شود که محتوای گلوکوزینولات و مهمتر از آن متابولیت‌های گلوکوزینولات سهم عمده‌ای در فواید سلامتی مرتبط با مصرف سبزیجات Cruciferae دارند. غلظت‌های بالای

متابولیت (کلسترول، تری اسیل گلیسرول) اثر کاهش دهنده چربی را در سرم این حیوانات نشان داد (۲۵). مطالعه‌ای دیگر توسط Ahn و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که تربچه سیاه تخمیر شده منجر به کاهش تجمع چربی را در سلول‌های چربی 3T-L1 کاهش می‌دهد. 3T-L1 یک فیبروبلاست جدا شده از جنین موش است که به نظر می‌رسد با کاهش عوامل رونویسی چربی مرتبط است. یافته‌های مطالعه مذکور نشان داد که تجویز ترب سیاه تخمیر شده به موش‌های دارای کمبود متیونین و کولین (Methionine-choline-deficient) به طور قابل توجهی منجر به بهبود سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و تری گلیسیرید می‌گردد. علاوه بر این، درمان با تربچه سیاه تخمیر شده التهاب کبدی ناشی از رژیم غذایی دارای کمبود متیونین و کولین را با کاهش بیان اکسید نیتریک القایی سرکوب کرد (۹).

رادیکال‌های آزاد ممکن است در پاتوژنز مشکلات کبدی نظیر هیپرلیپیدمی و کبد چرب نقش داشته باشند و تغییرات متابولیک را افزایش دهند (۲۶). آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد را می‌توان با آنتی‌اکسیدان‌هایی که در انواع مختلف سبزیجات که از خانواده گیاهان *Cruciferae* می‌باشند کاهش داد. تربچه سیاه نیز به همین طبقه اختصاص دارد. این تغییرات گزارش شده می‌تواند توجه محققان را به خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظت از کبد ترکیبات فعال عصاره تربچه سیاه جلب کند. زیرا این ماده می‌تواند نقش مهمی در جلوگیری از فرآیندهای پراکسیداسیون لیپید ایفا کند.

اوره و کراتینین از مواد زائد سمی در بدن می‌باشند که باید از طریق کلیه‌ها دفع گردند. از این رو میزان کراتینین و ازت اوره خون نمایانگر عملکرد کلیه‌ها است و بالا بودن این دو حاکی از اختلال در عملکرد کلیه یا بیماری‌های کلیوی

در ترب سیاه بر متابولیسم لیپید و پراکسیداسیون لیپیدی هنوز مشخص نیست، اثر مفید این ماده در برخی مطالعات مشهود بوده است. در مطالعه Lugasi و همکاران (۲۰۰۵)، اثر آنتی‌اکسیدانی آب فشرده ترب سیاه (*Raphanus sativus L. var niger*) در هیپرلیپیدمی گوارشی موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها حاکی از آن بود که مکمل رژیم غذایی غنی از چربی به همراه آب تربچه سیاه منجر به بهبود قابل توجه مواد واکنش‌دهنده با اسید تیوباربیتوریک و غلظت اسیدهای چرب کونژوگه گردید که به طور قابل توجهی در موش‌های هیپرلیپیدمیک بالاتر بود (۵). بر اساس مطالعه مذکور، ترب سیاه، آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه یا پیشگیرانه را که می‌توانند سرعت شروع زنجیره را در فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی کاهش دهند، تقویت می‌کند. اگرچه عوامل شلاته کننده آنتی‌اکسیدان نیستند، اما نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید دارند و در حضور آنها، این واکنش‌ها سرکوب می‌شوند. مطالعه Lugasi و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که ترب سیاه منجر به شلاته شدن مس به طور قابل توجه می‌گردد (۲۴). همچنین، مطالعه Kocsis و همکاران (۲۰۰۲) خواص مفید آب فشرده شده ریشه تربچه سیاه را در موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک مورد ارزیابی قرار داد.

یافته‌ها تغییرات مقادیر مختلف آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP و سایر مقادیر پارامترهای متابولیک کلسترول توتال، تری گلیسرید، بیلی روبین توتال و گلوکز اثر رژیم ریشه تربچه سیاه را بر کبد و متابولیسم لیپید را تایید کرد (۲۵).

کاهش ترانس‌آمینازها و آلکالین فسفاتاز در حیوانات با هیپرلیپیدمی نشان دهنده اثر محافظتی احتمالی ترکیبات آب فشرده ریشه تربچه سیاه است که می‌تواند کبد را از آسیب بافتی ناشی از رژیم غذایی غنی از چربی محافظت کند. همچنین مشابه با یافته‌های مطالعه ما تغییرات مقادیر

مطالعه Evans و همکاران نشان داد که تاثیر مثبت عصاره تربچه سیاه را بر کاهش کراتینین مورد تایید قرار داد (۱۳). با این حال، با توجه به کمبود یافته‌ها رد این خصوص، انجام مطالعات بیشتر برای اطمینان از تاثیر تأثیر عصاره تربچه سیاه بر کاهش نیتروژن اوره خون و کراتینین مورد توصیه است.

نتیجه گیری

در این پژوهش، عصاره هیدورالکلی ترب سیاه در دوزهای مورد مطالعه در شرایط فیزیولوژی اثر سمی بر عملکرد کبد و کلیه نداشته است. علاوه بر این قادر به کاهش سطح تری-گلیسیرید (در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم) و کلسترول (در هر سه دوز) در موش‌های سوری گردید.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تعارض در منافع ندارند.

است. در این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در غلظت نیتروژن اوره و کراتینین در گروه‌های دریافت کننده عصاره، نسبت به گروه کنترل دیده نشد که نشان دهنده عدم وجود اثرات منفی عصاره بر روی عملکرد کلیوی می‌باشد. مقادیر نیتروژن اوره و کراتینین در گروه تیمار با عصاره ترب سیاه در دوزهای بالا (میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم) نسبت به گروه کنترل کاهش یافته هر چند معنی‌دار نبود. این نشان می‌دهد عصاره ترب سیاه علاوه بر اینکه اثر سمی بر عملکرد کلیه نداشته، بلکه در دوزهای بالاتر سبب کاهش نیتروژن اوره خون و کراتینین شده است.

مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعه Ahn و همکاران (۲۰۱۸)، اثرات عصاره تربچه سیاه را بر روی موش‌های مبتلا به آسیب کبدی ناشی از تراکلرید کربن ارزیابی کرد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، تأثیر عصاره تربچه سیاه بر کاهش سطوح نیتروژن اوره خون تأیید شد (۹). در همین راستا

فهرست منابع

1. Banihani SA. Radish (*Raphanus sativus*) and diabetes. *Nutrients*. 2017;9(9):1014.
2. Ahn M, Kim J, Hong S, Kim J, Ko H, Lee NH, et al. Black Radish (*Raphanus sativus* L. var. *niger*) Extract Mediates Its Hepatoprotective Effect on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury by Attenuating Oxidative Stress. *J Med Food*. 2018;21(9):866-75.
3. Castro-Torres IG, De la O-Arciniega M, Gallegos-Estudillo J, Naranjo-Rodríguez EB, Domínguez-Ortíz MÁ. *Raphanus sativus* L. var. *niger* as a source of phytochemicals for the prevention of cholesterol gallstones. *Phytotherapy Research*. 2014;28(2):167-71.
4. Afsharypuor S, Balam MH. Volatile constituents of *Raphanus sativus* L. var.

niger seeds. *Journal of Essential Oil Research*. 2005;17(4):440-1.

5. Lugasi A, Blázovics A, Hagymási K, Kocsis I, Kéry Á. Antioxidant effect of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* L. var. *niger*) in alimentary hyperlipidaemia in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2005;19(7):587-91.

6. Salah-Abbès JB, Abbès S, Ouanes Z, Houas Z, Abdel-Wahhab MA, Bacha H, et al. Tunisian radish extract (*Raphanus sativus*) enhances the antioxidant status and protects against oxidative stress induced by zearalenone in Balb/c mice. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*. 2008;28(1):6-14.

7. Patra JK, Das G, Paramithiotis S, Shin H-S. Kimchi and other widely consumed traditional fermented foods of Korea: a review. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:1493.
8. Şanlıer N, Gökçen BB, Sezgin AC. Health benefits of fermented foods. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2019;59(3):506-27.
9. Ahn M, Kim J, Hong S, Kim J, Ko H, Lee N-H, et al. Black radish (*Raphanus sativus* L. var. niger) extract mediates its hepatoprotective effect on carbon tetrachloride-induced hepatic injury by attenuating oxidative stress. *Journal of medicinal food*. 2018;21(9):866-75.
10. Ahn M, Moon J, Park C, Bang H, Kim GO, Kim S-J, et al. Chungpihongsim radish (*Raphanus sativus* L. cv. Chungpihongsim) ameliorates ethanol-induced gastric injury in rats. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 2016;16(1):37-43.
11. Kim J-D, Ahn S-W, Song I-B. A Reserch on the Radish based on the Sasang Constitutional Medicine (SCM). *Korean Journal of Oriental Medicine*. 2004;10(1):63-80.
12. Asghari MH, Hobbenaghi R, Nazarizadeh A, Mikaili P. Hydro-alcoholic extract of *Raphanus sativus* L. var niger attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via decreasing transforming growth factor β 1 level. *Research in pharmaceutical sciences*. 2015;10(5):429.
13. Hanlon PR, Webber DM, Barnes DM. Aqueous extract from Spanish black radish (*Raphanus sativus* L. Var. niger) induces detoxification enzymes in the HepG2 human hepatoma cell line. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55(16):6439-46.
14. You H, Hao R, Li R, Zhang L, Zhu Y, Luo Y. The effect of radish sourced 4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate on ameliorating the severity of high fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease in rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015;8(9):15910.
15. Lee SW, Yang KM, Kim JK, Nam BH, Lee CM, Jeong MH, et al. Effects of white radish (*Raphanus sativus*) enzyme extract on hepatotoxicity. *Toxicological Research*. 2012;28(3):165-72.
16. Syed SN, Rizvi W, Kumar A, Khan AA, Moin S, Ahsan A. In vitro antioxidant and in vivo hepatoprotective activity of leave extract of *Raphanus sativus* in rats using CCL4 model. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2014;11(3):102-6.
17. Ahn M, Park JS, Chae S, Kim S, Moon C, Hyun JW, et al. Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* Miller fruit and its constituent betaine in CCl4-induced hepatic damage in rats. *Acta histochemica*. 2014;116(6):1104-12.
18. Kim J, Ahn M, Kim S-E, Lee HS, Kim HK, Kim GO, et al. Hepatoprotective effect of fermented black radish (*Raphanus sativus* L. var niger) in CCl4 induced liver injury in rats. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 2017;41(4):143-9.
19. Hanlon PR, Barnes DM. Phytochemical composition and biological activity of 8 varieties of radish (*Raphanus sativus* L.) sprouts and mature taproots. *Journal of Food Science*. 2011;76(1):C185-C92.
20. Evans M, Paterson E, Barnes DM. An open label pilot study to evaluate the efficacy of Spanish black radish on the induction of phase I and phase II enzymes in healthy male subjects. *BMC complementary and alternative medicine*. 2014;14(1):1-12.
21. Higdon JV, Delage B, Williams DE, Dashwood RH. Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence

and mechanistic basis. *Pharmacological research*. 2007;55(3):224-36.

22. Scholl C, Eshelman BD, Barnes DM, Hanlon PR. Raphasatin is a more potent inducer of the detoxification enzymes than its degradation products. *Journal of Food Science*. 2011;76(3):C504-C11.

23. Hertog MG, Hollman PC, Katan MB. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1992;40(12):2379-83.

24. Lugasi A, Dworschák E, Blazovics A, Kéry A. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* L. var

niger) root. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 1998;12(7):502-6.

25. Kocsis I, Lugasi A, Hagymási K, Kéry A, Fehér J, Szoke É, et al. Beneficial properties of black radish root (*Raphanus sativus* L. var. niger) squeezed juice in hyperlipidemic rats: Biochemical and chemiluminescence measurements. *Acta Alimentaria*. 2002;31(2):185-90.

26. Yang L, Li Z, Song Y, Liu Y, Zhao H, Liu Y, et al. Study on urine metabolic profiling and pathogenesis of hyperlipidemia. *Clinica Chimica Acta*. 2019;495:365-73.



Evaluation of serum biochemical profile using black radish (*Raphanus sativus*) in mice

Seyedeh Ommolbanin Ghasemian¹, Maryam Karimi-Dehkordi², Ali Maddahi nejad³, Hooman Yousefi³

1- Assistant Professor, Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran.

2-Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Corresponding Author: Ma_karimivet58@yahoo.com

3- D.V.M. Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Received:2023.05.02

Accepted: 2023.08.20

Abstract

Background & Aim: Considering the presence of active compounds in black horseradish, the present study aimed to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of black radish on liver and kidney function in small laboratory mice.

Materials & Methods: In this study, 40 small laboratory mice were randomly divided into four groups of control and experimental groups (50, 100, and 150 mg/ml black radish extract). Intraperitoneal injection of hydroalcoholic extract of black radish was performed in the experimental groups. On the 21st day, the mice were anesthetized and then blood sampling was done. Blood urea nitrogen (BUN), creatinine, alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), triglyceride and cholesterol levels were compared between the groups.

Results: The levels of BUN, creatinine, ALP, AST and ALT in the experimental groups were not significantly different from the control group ($P>0.05$). Treatment with horseradish extract led to a decrease in fat profiles in the experimental group compared to the control group. By increasing the dose of the extract, the amount of triglycerides decreased. This reduction was significant in the highest dose (150 mg/kg) ($P<0.05$). In addition, black radish extract led to a significant decrease in cholesterol in all three doses compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The results of the present study indicate the absence of liver and kidney toxicity of the extract in the doses used in the study. It can also be said that in physiological conditions, the use of black horseradish hydroalcoholic extract reduces the fat profile.

Keywords: Black radish, Hydroalcoholic extract, Liver function, Kidney function, Lipid profile