اثرات پیشگیری‌کنندگی عصاره میوه عناب (*زیزیفوس جوجوبا*) از استئاتوز کبد در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پرچرب

شهرام علیپوربرزگر[۱]، بهرام عمواوغلی‌تبریزی[۲]*

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات پیشگیری‌کنندگی عصاره میوه عناب از ایجاد کبد چرب ایجاد شده در اثر رژیم غذایی پرچرب در موش‌های صحرایی بود. بدین منظور ۸۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ٤ گروه برابر شامل: ۱-گروه شاهد سالم، ۲-گروه تغذیه باجیره پرچرب، ۳-گروه تغذیه با جیره پرچرب به‌علاوه درمان با کلوفیبرات (۳۲۰mg/kg) و ٤-گروه تغذیه با جیره پرچرب به‌علاوه تیمار با عصاره میوه عناب (۲۰۰mg/kg) تقسیم شدند. کبد چرب به وسیله امولسیون پرچرب (۱۰ml/kg) ایجاد شد. گروه‌ها از لحاظ تغییرات شاخص‌های سرمی آسیب بافت کبد، فعالیت آنتی‌اکسیداتیوی کبد و تغییرات آسیب‌شناسی بافتی آن مورد مقایسه قرار گرفتند. سطح سرمی آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد در گروه تغذیه با جیره پرچرب در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کبد به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش یافت. در گروه تیمار با عصاره میوه عناب، مقادیر افزایش یافته آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد و بیلی‌روبین تام سرم به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش و مقادیر کاهش‌یافته پروتئین تام و آلبومین سرم به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش یافت. همچنین، در این گروه عصاره میوه عناب به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد را بهبود بخشید و میزان مالون‌دی-آلدئید کبد را به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش داد. از لحاظ آسیب‌شناسی نیز تغییرات بافتی کبد هم‌راستا با یافته‌های بیوشمیایی بود. نتایج مطالعه نشان داد تاثیر عصاره میوه عناب در پیشگیری از کبد چرب در موش‌های صحرایی متعاقب تغذیه با جیره پرچرب از طریق افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی اعمال می‌شود.

واژگان کلیدی: *کبد چرب، عناب، آنتی‌اکسیدان، موش صحرایی*

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱٦ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۵

مقدمه

کبد چرب غیر الکلی از جمله اختلالات متابولیکی به شمار می‌آید که سالانه جان میلیون‌ها نفر را مورد تهدید قرار داده و عمدتاً با چاقی مفرط افزایش چربی خون و دیابت شیرین نوع ۲ همراه می‌باشد. بررسی‌ها حکایت از آن دارد که تغذیه با جیره پرچرب به استئاتوز کبدی منجر می‌گردد (۱).

تری‌گلیسیرید و کلسترول جزء آن دسته از لیپیدهای بیولوژیکی به حساب می‌آیند که مصرف بیش از اندازه آنها از طریق غذا زمینه لازم را برای ابتلاء فرد به هیپرتری‌گلیسریدمی (۳ و ۲) و هایپر کلسترولمی(٤) را ایجاد می‌کند.

کبد چرب غیر الکلی در اثر تجمع تری گلیسریدها در سلولهای کبدی که به دنبال ترکیب اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول شکل می‌گیرد، نمایان شده که این افزایش اسیدهای چرب آزاد در کبد عمدتا، ازطریق ۳ عامل: لیپولیز (هیدرولیز اسید چرب وگلیسرول از تری‌گلیسرید) در بافت چربی، رژیم غذایی پر چرب و لیپوژنز مجدد حاصل می‌شود (۹ و ۵). افزایش نفوذ چربی در کبد، سبب کاهش تولید پیش‌سازهای انرژی در آن (کاهش گلوکونئوژنز و اثرات مختلف روی بتا اکسیداسیون چربی‌ها و کتوژنز) و افزایش لیپوژنز در این عضو می‌شود. از قدرت انسولین در افزایش سنتز پروتئین‌ها به هنگام کبد چرب کاسته می‌شود که حاصل آن افزایش غلظت آمونیاک خون در مبتلایان به این بیماری می‌باشد. در کبد چرب تغییرات عمیق در اعمال هپاتوسیت‌ها و آدیپوسیت‌ها اتفاق می‌افتد. از برجسته-ترین اختلالاتی که مشاهده می‌شود وقفه گلوکونئوژنز و اوره‌ا ژنز (urea genesis) و افزایش لیپوژنز در سلول‌های کبدی و لیپولیز در بافت چربی می‌باشد. کبد چرب سبب تغییر حساسیت بافت چربی و پانکراس به هورمون‌ها می‌شود. در این رابطه نشان داده شده است که عمل لیپوژنز با قدرت کمتری بوسیله انسولین و گلوکز تسریع می‌شود و آدرنالین به صورت بیشتری عمل لیپولیز را انجام می‌دهد (۹ و ۷). در مقابل این

۱- دانشجوی گروه آموزشی علوم درمانگاهی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

*۲- دانشیار گروه آموزشی علوم درمانگاهی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران .

bahram_tabrizi1353@yahoo.com ,b_tabrizi@iaut.ac.ir

امکان وجود دارد که اسیدهای چرب از طریق بتا اکسیداسیون، اکسیداسیون مجدد به تری‌گلیسریدها و همچنین ذخیره به شکل قطرات چربی یا دفع به صورت VLDL (very low density lipoprotein) مصرف شوند. در نتیجه تجمع چربی در کبد می‌تواند در اثر عواملی چون افزایش سنتز چربی، کاهش دفع چربی و یا کاهش بتااکسیداسیون (فرآیندی که در طی آن مولکول‌های اسید چرب در میتوکندری تجزیه و استیل کوآنزیم آ تولید می‌شود) آن به وجود آید. نشان داده شده است که ٦٠٪ محتوای تری‌گلیسرید کبد در نتیجه انتقال اسیدهای چرب از بافت چربی، ٢٦ درصد از طریق لیپوژنز مجدد و ١٥٪ آن از جیره غذایی منشاء می گیرد (٦).

کبد چرب غیر الکلی با یکسری تغییرات آسیب‌شناسی شامل تجمع چربی، هپاتیت، نکروز، فیبروز و سیروز همراه می‌باشد (٨ و ٧).

پیش از این دانشمندان بر این باور بودند که کبد چرب یک پدیده ساده و بدون عارضه می‌باشد، در صورتی که امروزه به این نتیجه رسیده‌اند که کبد چرب به استرس‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیر بوده و می‌تواند به استئاتوهپاتیت که با نکروز، آماس، فیبروز و سیروز مشخص می شود، منجر گردد (٩).

فرضیه‌ای در پاتوژنز استئاتوهپاتیت کبدی وجود دارد که تجمع تری‌گلیسریدها در کبد منجر به افزایش حساسیت کبد به آسیب های ناشی از سیتوکائین‌ها یا لیپوکائین‌های آماسی همچنین اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها و استرس اکسیداتیو خواهد شد که در نهایت منجر به استئاتوهپاتیت و یا فیبروز می شود (١٠). نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو در تبدیل استئاتوز به استئاتوهپاتیت موثر می‌باشد (١١). در هر صورت این امکان وجود دارد که کبد چرب باعث نارسائی کامل کبد شود، اما درمان مناسب و ایده‌آلی برای آن بنا نشده است (٧) و روش‌های اتخاذ شده تنها راهکاری در جهت کنترل زمینه‌های خطرساز می‌باشد. درمان‌های فارماکولوژیک شامل استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و حساس‌کننده‌های انسولینی می‌باشد.

وجود گیاهان دارویی فراوان با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی این امر را میسر ساخته تا در صورت استئاتوهپاتیت در موارد تغذیه با جیره پرچرب، راهکاری مناسب در جهت پیشگیری و درمان بیماری به حساب آید که از جمله آنها می‌توان به میوه عناب اشاره کرد (٧ و ٥، ٣). عناب گیاهی است از خانواده رامناسه که به فارسی عناب و در کتب مختلف فارسی و طب سنتی با نام های عناب، شیلانه، سیلانه و... شناخته می‌شود. گیاه عناب با واریته‌ای تیغ‌دار و بدون تیغ دارای بلندی ٨-٦ متر بوده و در برابر خشکی بسیار مقاوم است. برگ‌های این گیاه کوچک و دندانه دار و گل‌هایش با رنگ سبز روشن متمایل به زرد رخ‌نمایی می‌کند. میوه عناب به رنگ قرمز تخم‌مرغی و به اندازه زیتون با طعمی شیرین و تک هسته‌ای و از لحاظ تیپ جسمی به راسته شمشاد و کهور شباهت دارد (١٢). از عمده‌ترین اجزای شیمیایی آن تری‌ترفن، ساپونین و آلکالوئیدها می‌باشند. پوست آن شامل مقدار زیادی از ساپونین با خاصیت کف‌کنندگی طبیعی است و به دلیل نیروی پاک-کنندگی بالا به طور عموم در ساخت شامپوها و صابون‌ها به کار برده شده است (١٢). اسید بتولینیک (Betulinik acid) موجود در این گونه، فعالیت‌های ضدسرطانی خود را در آزمایشات بالینی گوناگون نشان داده است. اخیراً به نقش اسید بتولینک در درمان و جلوگیری از ملانوم‌های کشنده پی برده شده است. در یک مطالعه به موش سالم، ملانومای کشنده انسان بیمار پیوند زده شد و اسید بتولینک نیز به بدن موش تزریق شد و این اسید به طور کامل از رشد تومور جلوگیری کرد. مواد شیمیایی اصلی گیاه شامل آلکالوئیدها، آمفیبین D، اسید بتولینک، مشتقات اسید بتولینک، جوجوبا (Jojoba) و ساپونین می‌باشد. نتایج مطالعه Xiangchun در سال ٢٠٠٩ نشان داد که زیریفوس جوجوبا می‌تواند با رادیکال‌های آزاد کونژوگه شده و اثرات

توکسیک آن‌ها را کاهش دهد و پاسخ‌های التهابی کبد (ناشی از تتراکلرید کربن) را کاهش دهد (٤٢).

با توجه به منابع موجود می‌توان گفت که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص اثرات پیشگیری کننده عصاره میوه عناب از ابتلاء به کبد چرب در موارد تغذیه با جیره پرچرب وجود نداشته و تحقیق حاضر برای اولین بار در جهت ارزیابی اثرات پیشگیری کننده عصاره میوه عناب از استئاتوهپاتیت کبدی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پرچرب طراحی شده است.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی بود و مراحل مختلف مطالعه به‌صورت دوسو بی‌خبر انجام شد. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و شیوه‌نامه‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تائید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بود. برای انجام این مطالعه، از تعداد ٨٠ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ٢٥ ± ٢٠٠ گرم، استفاده شد. شرایط نگه‌داری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ١٢ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ٢ ± ٢١ درجه سانتی‌گراد بود. جیره غذایی به صورت پلت‌های استاندارد آماده (Chow) و آب نیز به‌طور آزاد در دسترس قرار گرفته و پس از یک هفته عادت به شرایط جدید، آزمایش شروع شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ٤ گروه مساوی شامل: ١-گروه شاهد، ٢-گروه تغذیه با جیره پر چرب، ٣- گروه تغذیه با جیره پر چرب به‌علاوه درمان با کلوفیبرات (Clofibrate) به‌میزان ٣٢٠ mg/kg/day (به عنوان کنترل مثبت) و ٤ -گروه تغذیه با جیره پر چرب به علاوه تیمار با عصاره میوه عناب تقسیم شدند. برای ایجاد کبد چرب، از امولسیون پرچرب طبق روش ارائه شده توسط Zou و همکاران در سال ٢٠٠٦ استفاده شد (٤٣). ترکیب امولسیون پرچرب در جدول ١ ارائه شده است. به طور خلاصه، موش‌های گروه‌های ٢ تا ٤، امولسیون پرچرب را به میزان ١٠ ml/kg، روزانه رأس ساعت ٨ صبح به مدت ٦ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. به موش‌های گروه شاهد نیز به همان میزان (١٠ ml/kg) سالین نرمال گاواژ شد. همزمان به رژیم غذایی موش‌های گروه ٤ عصاره میوه عناب به میزان ٢٠٠ mg/kg به مدت ٦ هفته (٢١) گاواژ شد. گروه کنترل مثبت نیز، کلوفیبرات را به میزان 320 mg/kg/day از طریق گاواژ به صورت سوسپانسیون در متیل سلولز ٠/٥٪ (2ml/kg) دریافت کرد (٣٩). به موش‌های گروه شاهد نیز به همان میزان (2 ml/kg) متیل سلولز ٥٪ گاواژ شد.

جدول ١- ترکیب امولسیون پر چرب جهت گاواژ به موش‌های صحرایی

ترکیب	مقدار مصرف
روغن ذرت	٤٠٠ گرم
ساکاروز	١٥٠ گرم
پودر کامل شیر	٨٠ گرم
کلسترول	١٠٠ گرم
سدیم دی‌اکسی‌کولات	١٠ گرم
توئین ٨٠	٣٦/٤ گرم
پروپیلن گلیکول	٣١/١ گرم
مولتی ویتامین	٢/٥ گرم
نمک	١٠ گرم
مواد معدنی مخلوط	١/٥ گرم
آب مقطر	٣٠٠ میلی‌لیتر

تهیه عصاره

برای تهیه عصاره، میوه‌های کاملاً رسیده و تازه عناب از فروشگاه محلی گیاهان دارویی خریداری شد که پس از تائید توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی مورد استفاده قرار گرفت. دانه ها از میوه‌های عناب جدا شده و حدود ٧٠٠ گرم از مواد پالپی میوه در سه نوبت توسط آب مقطر (١٥٠٠ میلی لیتر) و توسط دستگاه آسیاب کن مکانیکی استخراج گردیده و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٠ دقیقه و با سرعت ٤٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول شناور جمع‌آوری شده و تا زمان استفاده در دمای

۲۰- درجه سانتی‌گراد به صورت لیوفیلیزه نگهداری شد. از محصول فوق، دوز پیشگیری با غلظت mg/ml ۱۰۰ توسط آب مقطر در زمان استفاده تهیه شد (۲۱).

اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی

الف: سنجش شاخص‌های سرمی آسیب بافت کبد

در پایان دوره آزمایش جهت اندازه‌گیری برخی فاکتورهای بیوشیمیایی شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز ALT (۳۵)، آلکالین فسفاتاز (ALP) (۲۳)، آلبومین(Alb)، توتال پروتئین (TP) (۲۸) و توتال بیلی‌روبین (۲۹)، نمونه خون ناشتا از سینوس پشت کره چشم(retro-orbital plexus) اخذ گردید. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵دقیقه در دمای۳۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد.

ب: تعیین وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد

هم‌زمان همه موش‌ها با ایجاد دررفتگی در مهره‌های گردن (Cervical dislocation) آسان‌کُشی (Euthanasia) شدند. کبد موش‌ها سریعاً خارج و در سالین بسیار سرد شستشو و هموژنات ۱۰ درصد در (w/v) ۱/۱۵ درصد کلرور پتاسیم تهیه شد. هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و محلول شناور جهت سنجش میزان LPO (Lipid peroxidation)، SOD (Superoxide dismutase)، CAT (Catalase)، GPX (Glutathione peroxidase) و GR (Glutathione reductase) مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مورد مطالعه و میزان MDA با استفاده از کیت‌های تجاری موجود (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute, Nanjing, China) و طبق دستورالعمل شرکت تولیدکننده کیت انجام شد. مقدار MDA بافتی به صورت نانومول مالون دی آلدئید (nmol) در میلی‌گرم پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت واحدهای قراردادی در میلی‌گرم پروتئین عنوان گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز توسط روش Nishikimi و همکاران در سال ۱۹۷۲ تعیین گردید (۳۳). در حدود ۵ میکروگرم از پروتئین‌های تام هر یک از هموژنات‌های کبدی با بافر پیروفسفات سدیم، فنازین متوسولفات (phenazine methosulfate, PMT) و نیترو ـ بلو تترازولیوم (Nitro-blue Tertazolium; NBT) مخلوط گردید. واکنش با افزودن نیکوتین آمید – آدنین دی – نوکلئوتید (Nicotinamide-adenine dinucleotide; NADH) آغاز شد. مخلوط واکنش در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه انکوبه و با افزودن ۱ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال متوقف گردید. شدت جذب مخلوط رنگزای تشکیل شده در ٥٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به صورت غلظت آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از تولید رنگ تا ۵۰٪ در ۱ دقیقه، تحت شرایط مطالعه، تعیین گردید. فعالیت کاتالاز توسط روش Claiborne در سال ۱۹۸۵ و بر اساس تجزیه پراکسید هیدروژن در ۲٤۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت (١٦). به طور خلاصه، مخلوط مورد سنجش متشکل از ۱/۹۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=۷, ۰/۰۵ مولار)، ۱ میلی‌لیتر پرکسید هیدروژن (۰/۰۱۹ مولار) و ۰/۰۵ میلی‌لیتر PMS ۱۰ درصد در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر بود. تغییرات در جذب، در ۲٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت نتیجه به شکل "فعالیت کاتالاز در دقیقه" محاسبه گردید.

فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از روش Rotruck و همکاران در سال ۱۹۷۳ (۳٦) و بر اساس واکنش ذیل مورد سنجش قرار گرفت:

$$H_2O_2 + 2GSH \text{ (گلوتاتیون احیاء)} \longrightarrow 2H_2O + GSSG \text{ (گلوتاتیون اکسید)}$$

گلوتاتیون پراکسیداز در هموژنات بافتی گلوتاتیون را اکسیده کرده که به طور هم زمان پراکسید هیدروژن به آب احیاء می‌گردد. این واکنش پس از ۱۰ دقیقه توسط تری‌کلرواستیک اسید متوقف و گلوتاتیون باقی‌مانده توسط محلول دی تیوبیس نیتروبنزوئیک اسید (Dithiobis nitrobenzoic acid; DTNB) مجدداً فعال گردیده و منجر به تشکیل ترکیب رنگی می‌گردد که

شدت جذب نوری آن با اسپکتروفتومتر در ٤٢٠ نانومتر اندازه-گیری می‌شود. مخلوط واکنشگر متشکل از ۰/۲ میلی‌لیتر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۰/۸ میلی‌مولار (ethylenediamine tetra-acetic acid;EDTA)، ۰/۱ میلی‌لیتر آزید سدیم ۱۰ میلی-مولار (sodium azide)، ۰/۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۲/۵ میلی‌مولار و ۰/۲ میلی‌لیتر هموژنات بود که در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید. واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد متوقف و لوله‌ها با ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۳ میلی‌لیتر دی سدیم هیدروژن ۰/۸ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی لیتر ۰/۰٤DTNB درصد به محلول شناور افزوده شد و بلافاصله رنگ حاصله در ٤٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز به صورت میلی‌گرم پروتئین/دقیقه/میکرومول گلوتاتیون اکسید بیان گردید. فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز با استفاده از روش Mohandas و همکاران در سال ۱۹۸٤ (۳۰) بر اساس واکنش ذیل مورد سنجش قرار گرفت.

$$NADPH + H+ + GSSG \rightarrow NADP+ + 2GSH$$

در حضور گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون اکسیده، احیاء گردیده و هم زمان، NADPH به +NADP اکسیده می‌شود. فعالیت آنزیم در دمای اتاق و با ناپدید شدن میزان NADPH در دقیقه با اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری کاهش جذب نوری در ۳۲۰ نانومتر، تعیین شد.

ج: آسیب‌شناسی بافتی کبد

از کبد تمامی موش‌ها، نمونه‌های بافتی اخذ و در فرمالین بافری ۱۰ درصد پایدار شد. از نمونه‌های فوق با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون و با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین تهیه شد (۲٦). جراحات آسیب‌شناسی کبد به صورت تغییر چربی هپاتوسیت‌ها بر اساس شدت ضایعه طبق روش ارائه شده توسط Wang درسال ۲۰۰۹ و Brunt در سال ۱۹۹۹ (۳۹، ۱۵)، ازصفر تا ٤ (صفر: بدون استئاتوز، ۱: کمتر از ۲۵٪ هپاتوسیت‌ها دچار استئاتوز هستند، ۲: بین ۲۵ تا ۵۰٪ هپاتوسیت‌ها دچار استئاتوز هستند، ۳: بین ۵۰ تا ۷۵٪ هپاتوسیت‌ها دچار استئاتوز هستند و ٤: بیش از ۷۵٪ هپاتوسیت‌ها دچار استئاتوز هستند)، رتبه‌بندی گردید. کلّیه درجه‌بندی‌ها با بزرگنمایی ۱۰۰× و در ۵ میدان میکروسکوپی از هر برش، به‌طور تصادفی با میکروسکوپ نوری مدل نیکون (ECLIPSE E200)، ساخت کشور ژاپن انجام شد.

د: تحلیل آماری داده‌ها

برای تحلیل داده‌ها از بسته نرم‌افزاری SPSS-19 استفاده شد. داده‌های به‌دست آمده کمّی، به صورت میانگین±انحراف استاندارد (mean±SEM.) ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی(Tukey) مورد بررسی قرار گرفت. آزمون یو مان–ویتنی(Mann-Whitney U Test) نیز برای تجزیه و تحلیل درجات آسیب‌شناسی بافتی کبد چرب مورد استفاده قرار گرفت. اختلافات در سطح $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شدند.

نتایج

الف– تاثیر عصاره میوه عناب بر تغییر پارامترهای بیوشیمیایی آسیب کبد ناشی از تغذیه با رژیم پرچرب

نتایج تاثیر عصاره عناب بر پارامترهای بیوشیمیایی آسیب کبد ناشی از تغذیه با رژیم پرچرب در جدول ۲ آورده شده است. در موش‌های گروه تغذیه با جیره پر چرب، سطوح سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و بیلی‌روبین تام سرم (TB) در مقایسه با گروه شاهد سالم، به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) افزایش و میزان پروتئین تام (TP) و آلبومین سرم (Alb) به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) کاهش یافت. در گروه کنترل مثبت، داروی کلوفیبرات، سطوح افزایش یافته سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP و بیلی‌روبین تام سرم در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) و تا حد طبیعی

کاهش و مقادیر کاهش یافته پروتئین تام و آلبومین سرم در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۱) و تا سطوح طبیعی خود افزایش داد. در گروه تغذیه با جیره پر چرب بعلاوه تیمار با عصاره میوه عناب، تیمار با عصاره مقادیر افزایش‌یافته آنزیم‌های مارکر و بیلی‌روبین تام سرم در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش و مقادیر کاهش یافته پروتئین تام و آلبومین سرم را به‌طور معنی‌داری(P<۰/۰۱) افزایش داد.

جدول ۲- تاثیر عصاره میوه عناب بر شاخص‌های سرمی آسیب کبد در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

گروه‌ها	شاخص‌های سرمی آسیب کبد					
	آلانین آمینو ترانسفراز (U/L)	آسپارتات آمینو ترانسفراز (U/L)	آلکالین فسفاتاز (IU/L)	بیلی‌روبین تام سرم (mg/dl)	آلبومین (g/dl)	پروتئین تام سرم (g/dl)
شاهد سالم	۵۳/۷۱±۲/۶۲	۶۹/۳۲±۲/۵۵	۱۹۵/۲۷±۸/۷۵	۰/۷۹±۰/۰۳	٤/۷٤±۰/۳۵	۸/٦٤±۰/٦۲
رژیم غذایی پر چرب	۷۷/۵۲±٤/۱۱[a]	۱۰۱/۷٤±۳/٦۲[a]	۲۷۰/٤۳±۱۱/۲٦[a]	۱/۲۷±۰/۰۹[a]	۳/۱۱±۰/۲۰[a]	۵/۷۳±۰/۳۸[a]
رژیم غذایی پر چرب + داروی کلوفیبرات	۵۵/٦۳±۳/۰۹[b]	٦۷/۸۸±۲/٤٦[b]	۲۰۱/٦۸±۹/۵٦[b]	۰/۸۵±۰/۰۵[b]	٤/۵۲±۰/۲٦[b]	۷/٤۵±۰/۵۸[b]
رژیم غذایی پر چرب + عصاره میوه عناب	۵۱/۸۲±۲/٤٤[b]	۷۰/۸۱±۳/۱۵[b]	۲۱۲/۳۸±۹/۷۰[b]	۰/۸۷±۰/۰٤[b]	٤/۲۱±۰/۱۹[b]	۷/٤۰±۰/٦۲[b]

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (Mean±SEM) برای ۲۰ سر موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است.
a: اختلاف معنی‌دار با گروه ۱ (P<۰/۰۱) ، b: اختلاف معنی‌دار با گروه ۲ (P<۰/۰۱)

ب- تاثیر عصاره عناب در موش‌های گروه تغذیه با رژیم غذایی پر چرب

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در مقایسه با گروه شاهد سالم، به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش و میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش یافت. در گروه کنترل مثبت، داروی کلوفیبرات سطوح کاهش‌یافته فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۱) و تا حد طبیعی افزایش و مقدار افزایش یافته مالون‌دی‌آلدئید در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۱) و تا سطوح طبیعی خود کاهش داد. در گروه تغذیه با جیره پر چرب به‌علاوه تیمار با عصاره، عصاره میوه عناب نیز سطوح کاهش یافته فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد در اثر رژیم غذایی پرچرب را به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش و مقدار افزایش یافته مالون‌دی‌آلدئید بافت کبد در اثر رژیم غذایی پرچرب را به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۱) کاهش داد (جدول ۳).

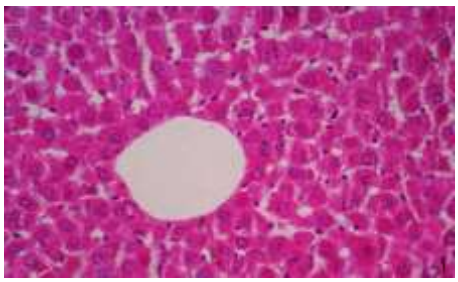
جدول۳- تاثیر عصاره میوه بر تغییرات آنتی‌اکسیدانی بافت کبد در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

گروه‌ها	پارامترهای بیوشیمیایی				
	مالون‌دی‌آلدئید (nmol/g protein)	سوپراکسید دیسموتاز (U/mg protein)	کاتالاز (U/mg protein)	گلوتاتیون پراکسیداز (U/mg protein)	گلوتاتیون ردوکتاز (U/mg protein)
شاهد سالم	٤/٤٦±٠/١٥	١٥/٤٣±٠/٤٨	٦١/٢٩±٢/٧٣	٢٣/٤٤±١/٣٢	١١٨/٤٢±٤/٩٥
رژیم غذایی پر چرب	٦/١٠±٠/٢٣[a]	١١/١٠±٠/٢٢[a]	٣٧/٧٢±١/٥٥[a]	١٧/٩٢±٠/٦٢[a]	٨٩/٨٥±٣/٢٢[a]
رژیم غذایی پر چرب + داروی کلوفیبرات	٤/٥١±٠/١٦[b]	١٤/٣٩±٠/٤١[b]	٥٧/٧٤±١/٣٤[b]	٢١/٨٨±١/٤٥[b]	١١١/٥٢±٤/٧٣[b]
رژیم غذایی پر چرب + عصاره میوه عناب	٤/٥٤±٠/١٨[b]	١٤/٧٤±٠/٥٠[b]	٥٩/١٤±١/١٦[b]	٢٢/٤٥±١/٧٤[b]	١١٣/٣٢±٤/٦٢[b]

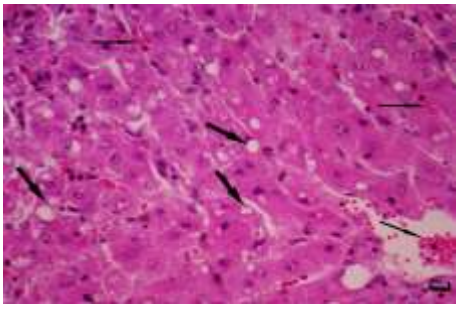
مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (Mean±SEM) برای ۲۰ سر موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است.
a: اختلاف معنی‌دار با گروه ۱ (P<۰/۰۱) ، b: اختلاف معنی‌دار با گروه ۲ (P<۰/۰۱).

ج- آسیب شناسی بافتی تاثیر عصاره میوه عناب بر بافت کبد در رژیم غذایی پرچرب

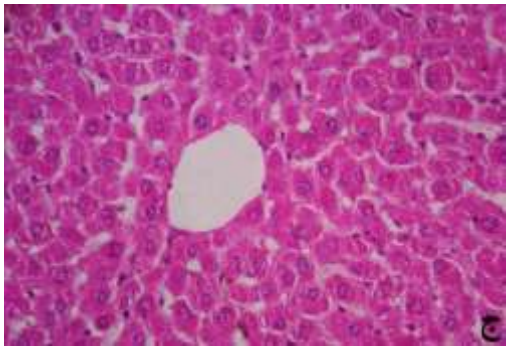
در مطالعات ریزبینی، هیچگونه حالت غیر طبیعی در بافت کبد موش‌های گروه شاهد سالم مشاهده نشد (نگاره ۱- الف). در موش‌های گروه تغذیه شده با جیره پر چرب لیپیدوز شدید بافت کبد به صورت تشکیل واکوئول های ریز و درشت چربی همراه با تورم هپاتوسیت ها و پرخونی وریدچه مرکزی و سینوزوئیدها ایجاد شده بود (نگاره ۱- ب). داروی کلوفیبرات در موش‌های گروه کنترل مثبت، مانع از بروز لیپیدوز کبد شده بود (نگاره ۱- ج). در گروه تغذیه با جیره پر چرب به علاوه تیمار با عصاره، عصاره میوه عناب نیز تقریباً به طور کامل از بروز تغییر چربی در هپاتوسیت‌ها جلوگیری شده بود (نگاره ۱- د). تاثیر عصاره میوه عناب بر شدت لیپیدوز کبد در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب در جدول ٤ آورده شده است.



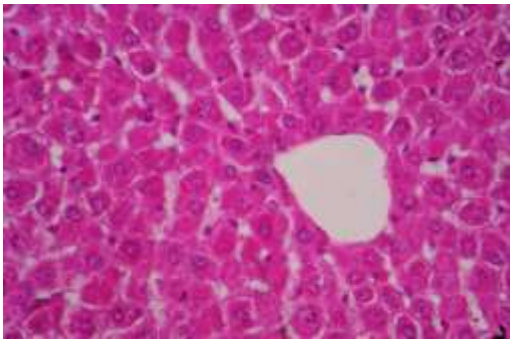
نگاره ۱ الف- فتومیکروگراف از بافت کبد یک موش صحرایی از گروه شاهد سالم: بافت کبد سالم و طبیعی می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، درشت‌نمایی ×٤٠).



نگاره ۱ ب- فتومیکروگراف از بافت کبد یک موش صحرایی از گروه تغذیه با رژیم پرچرب: لیپیدوز کبد با تشکیل واکوئول‌های پراکنده ریز و درشت چربی (پیکان‌های ضخیم) در سلول‌های کبدی و پرخونی وریدچه مرکزی و سینوزوئیدها (پیکان‌های باریک) مشخص می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×٤٠).



نگاره ۱ ج- فتومیکروگراف از بافت کبد یک موش صحرایی از گروه رژیم غذایی پرچرب به‌علاوه درمان با داروی کلوفیبرات. در بافت تغییر پاتولوژیک خاص و قابل ملاحظه‌ای مشاهده نمی‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشت‌نمایی ×٤٠).



نگاره ۱ د- فتومیکروگراف از بافت کبد یک موش صحرایی از گروه رژیم غذایی پرچرب به‌علاوه تیمار با عصاره میوه عناب: بافت کبد ظاهری طبیعی از خود نشان داده و تغییر پاتولوژیک خاصی در آن مشاهده نمی‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمایی ×٤٠).

جدول ٤- تاثیر عصاره میوه عناب بر لیپیدوز بافت کبد موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

گروه‌ها	درجات استئاتوز کبد					P
	صفر	۱	۲	۳	٤	
شاهد سالم	۲۰	۰	۰	۰	۰	
رژیم غذایی پر چرب	۰	۰	۲	٤	١٤	a
رژیم غذایی پر چرب + داروی کلوفیبرات	۱۰	٦	٤	۰	۰	b
رژیم غذایی پر چرب + عصاره میوه عناب	۱۰	٤	٦	۰	۰	b

هر گروه شامل ۲۰ سر موش صحرایی بوده و ارقام نشان‌دهنده تعداد موش‌ها برای هر درجه از شدت لیپیدوز در بافت کبد می‌باشد.

a: اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه شاهد سالم(**p**< ۰/۰۱). **b**: اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه رژیم پرچرب(**p**<۰/۰۱).

بحث

با نگاهی کلی به مطالعات انجام شده در خصوص اثرات فارماکولوژیکی عصاره عناب در جنبه‌های مختلف حتی در سطوح سلولی ـ مولکولی، مشخص می‌شود که تا کنون بررسی‌هایی که در مورد تاثیر عناب بر اختلالات کبد چرب انجام گرفته باشند، حتی در مدل‌های آزمایشگاهی، جهت مقایسه یافته‌ها در دسترس نبوده یا وجود ندارد.

افزایش فعالیت آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد شامل AST، ALT و ALP در سرم نشانگر آسیب کبد می‌باشد (۸). از آنجائی‌که تغییر در میزان سرمی مارکرهای فوق طی کبد چرب نیز قبلاً گزارش گردیده است (٤١و١٤)، بنابراین، در بررسی حاضر سطوح سرمی این آنزیم‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. افزایش فعالیت سرمی آنزیم‌های AST، ALT و ALP در سرم موش‌های مورد تغذیه با جیره پرچرب مشاهده شد که حکایت از بروز آسیب در سلول‌های کبدی را دارد. این یافته با نتایج Chidambarama و Venkatraman در سال ۲۰۱۰ همخوانی دارد (۱۸).

در بررسی آسیب کبد، سنجش سطوح سرمی آنزیم‌های AST، ALT و ALP به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز و آسیب غشاء سلول باعث رها شدن آین آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. افزایش سطح سرمی AST، آسیب کبد در اثر هپاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس‌های قلبی و صدمات

عضلانی را نشان می‌دهد. ALT که باعث تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات می‌شود، برای سلول‌های کبدی اختصاصی‌تر بوده و شاخص مناسب‌تری برای تشخیص آسیب در بافت کبد می‌باشد. افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های فوق نشان‌دهنده نشت سلولی بوده که به دلیل آسیب ساختار غشای هپاتوسیت‌ها و اختلال در عملکرد آن می‌باشد (۲۰). میزان ALP، بیلی‌روبین، آلبومین و پروتئین تام سرم نیز با عملکرد سلول‌های کبدی در ارتباط می‌باشد. افزایش سطح سرمی ALP در اثر افزایش تولید در حضور فشار فزاینده صفراوی رخ می‌دهد (۳۱).

بازگشت مقادیر افزایش یافته آنزیم‌های سرمی شاخص آسیب کبد به‌حالت طبیعی خود در اثر عصاره عناب می‌تواند در اثر جلوگیری از نشت آنزیم‌های داخل سلولی به‌دلیل حفظ یکپارچگی غشاء سلول و یا نوزایش و ترمیم سلول‌های آسیب دیده کبد باشد (٤٠). برگشت به مقادیر طبیعی سطوح سرمی ALP، بیلی‌روبین و پروتئین تام، بهبود زود هنگام مکانیسم‌های عملکردی و ساختاری سلول‌های کبدی را نشان می‌دهد. در هر صورت، تیمار با عصاره عناب تا حد قابل توجهی از افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های مذکور، ناشی از تغذیه با جیره پرچرب، جلوگیری کرد که این تاثیر با عملکرد کلوفیبرات در گروه کنترل مثبت، قابل مقایسه می‌باشد. در این مطالعه، نتایج بیوشیمیایی به دست آمده با یافته‌های هیستوپاتولوژی نیز مورد تائید قرار گرفت، به طوری که موش‌هایی که با جیره پرچرب تغذیه شده بودند، درجات بالایی از کبد چرب را بروز دادند. در هر صورت، ارزیابی‌های آسیب‌شناسی اثرات ضد هپاتواستئاتوزی عصاره عناب را در موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب نشان داد، طوری که عصاره مانع از رسوب چربی در هپاتوسیت‌ها شده بود. مشاهدات ریزبینی در توافق با یافته‌های بیوشیمیایی این مطالعه، با نتایج مطالعه Wang و همکارانش در سال ۲۰۰۹ همسو می‌باشد (٤١).

در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره عناب با اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید کبد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ما نشان داد که جیره پرچرب منجر به افزایش مالون‌دی‌آلدئید کبد و کاهش فعالیت SOD، CAT، GPx و GR می‌شود. بروز اختلال در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک حاکی از آن است که موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب قادر به مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد که باعث آسیب بافتی می‌شوند، نیستند (٣٤). شواهد موجود نشان می‌دهد که تجمع چربی در کبد، حساسیت این بافت را نسبت به سایر عوامل آسیب‌رسان نظیر استرس‌های اکسیداتیو افزایش می‌دهد که خود باعث پیشرفت استئاتوز به سمت استئاتوهپاتیت، فیبروز و سیروز می‌شود (٢٤). با توجه به ارتباط بین استرس اکسیداتیو و التهاب بافت (۱۸)، بررسی حاضر تائید می‌کند که رژیم غذایی پرچرب می‌تواند باعث آسیب اکسیداتیو کبد شود. القاء استرس اکسیداتیو نیز توسط افزایش مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی و وضعیت نابسامان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کبد موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پرچرب مورد تائید قرار می‌گیرد. به نظر می رسد که رادیکال‌های آزاد ناشی از لیپیدوز هپاتوسیت‌ها باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌گردد که خود منجر به تشکیل پراکسیدهای لیپیدی (مالون‌دی‌آلدئید) و در نهایت از بین رفتن یکپارچگی غشاء هپاتوسیت‌ها و آسیب کبد شده است. افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در موش‌های دریافت کننده جیره پرچرب، نشان‌دهنده افزایش واکنش‌های پراکسیداسیونی است که به ضعف مکانیسم‌های تدافعی آنتی‌اکسیدانی منجر گردیده و بدین ترتیب ممانعت از تشکیل مفرط رادیکال‌های آزاد هم مقدور نخواهد بود (۳۲). به عبارتی دیگر افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در کبد در اثر لیپیدوز هپاتوسیت‌ها نشان‌دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدی است که منجر به آسیب بافت کبد و هم چنین بی‌کفایتی مکانیسم‌های تدافعی آنتی اکسیدانی در ممانعت از تشکیل بی‌رویه رادیکال‌های آزاد می‌گردد.

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که یک سیستم تدافعی را علیه گونه‌های فعال اکسیژن یا (Reactive oxygen species; ROS) تشکیل داده‌اند (۲۷).

کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز شاخصی دقیق در آسیب سلول‌های کبدی به شمار می‌رود. این آنزیم یکی از مهم‌ترین عوامل در سیستم تدافعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی است. سوپراکسید دیسموتاز، آنیون سوپراکسید را با تبدیل به پراکسید هیدروژن پاکسازی نموده و بدین ترتیب اثرات سمی آن را کاهش می‌دهد (۱۹). در بررسی حاضر، میزان سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های دریافت کننده جیره پرچرب که به استئاتوز کبد مبتلا شده بودند، به دلیل تشکیل فراوان آنیون‌های سوپراکسید و همچنین فعالیت آنزیم‌های پاک‌کننده پراکسید هیدروژن یعنی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به طور معنی‌داری کاهش یافت. به نظر می‌رسد که غیرفعال شدن سوپراکسید دیسموتاز توسط آنیون‌های افزایش یافته سوپراکسید، منجر به غیرفعال شدن آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود. در مطالعه حاضر، مصرف عصاره عناب مانع از کاهش سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز شد که این امر ممکن است در اثر پاکسازی رادیکال‌های آزاد توسط عصاره باشد که منجر به حفظ و بقاء این آنزیم‌ها شده است.

کاتالاز آنزیمی آنتی‌اکسیدان است که به طور گسترده در بافت‌های بدن وجود دارد و دارای بیشترین فعالیت در کبد و گویچه‌های قرمز است. کاتالاز پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند و باعث محافظت بافت‌ها از رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل می شود (۱۷). بنابراین، کاهش فعالیت کاتالاز ممکن است منجر به برخی اثرات مخرب ناشی از رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن گردد.

گلوتاتیون ردوکتاز یک آنزیم سیتوزولی در سلول‌های کبدی است که در کاهش گلوتاتیون اکسید (GSSG)، به عنوان محصول نهایی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بر گلوتاتیون احیاء (GSH)، دخالت دارد (۳۲). در مطالعه حاضر، متعاقب مصرف جیره پرچرب کاهش قابل توجهی در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز کبد حاصل شد که این امر می‌تواند منجر به دسترسی گلوتاتیون ردوکتاز به سوبسترا گردیده و بدین ترتیب فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز کاهش یابد. مصرف عصاره عناب در کنار جیره پرچرب فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز را مجدداً برقرار نموده که مصرف گلوتاتیون اکسید جهت تشکیل گلوتاتیون احیاء و افزایش سم‌زدایی متابولیت‌های فعال را توسط کونژوگاسیون با گلوتاتیون احیاء برقرار می‌کند.

در کل، تجویز عصاره عناب به طور معنی‌داری وضعیت سیستم تدافعی آنتی‌اکسیدانی را در موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب بهبود بخشید. نتایج بررسی حاضر، گزارش سایر محققین را در خصوص اثرات آنتی اکسیدانی عناب و پاکسازی رادیکال آزاد توسط آن را مورد تائید قرار می‌دهد (۳۸). این نتایج نشان می‌دهد که عدم تعادل بین ایجاد استرس اکسیداتیو و تشکیل آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند متعاقب تغذیه با جیره پرچرب بروز نماید و اینکه عصاره عناب می‌تواند از این روند پاتولوژیک جلوگیری کند، اثرات درمانی و محافظتی آنرا از هپاتواستئاتوز ناشی از جیره پرچرب نشان می‌دهد. نتایج آزمایشات بیوشیمیایی مطالعه حاضر، در کنار یافته‌های هیستوپاتولوژی، نشان می‌دهد که تیمار با عصاره عناب استئاتوز کبد را کاهش داده و مانع از آسیب پراکسیداتیو آن می‌گردد به طوری که، این اثرات با اثرات کلوفیبرات قابل قیاس می‌باشد.

خاصیت کاهش‌دهندگی قند و چربی خون عصاره میوه عناب ممکن است به علت وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهی باشد. برخی از مطالعات به خاصیت کاهندگی قند و چربی خون تعدادی از عناصر و ویتامین‌های موجود در عناب از جمله منگنز، مس، روی، منیزیم، سلنیوم، ویتامین C و B6 به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی اشاره کرده اند (۲۸، ۱۳). مطالعات نشان داده است که میوه عناب غنی از ترکیبات

آنتی‌اکسیدان از جمله فلاوونوئیدها (flavonoids)، ساپونین (saponins)، تانن (tannins)، ویتامین‌ها، پلی‌ساکاریدها، عناصر کمیاب و اسیدهای آمینه متعدد می باشد (٤١ و٣٧، ٢٣). عصاره میوه عناب احتمالاً با دو مکانیسم: ١- دفع مدفوعی چربی، کلسترول و اسیدهای صفراوی، ٢- ممانعت از فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز کلسترول و چربی باعث کاهش چربی‌های سرم می‌شود. از آنجایی که در این مطالعه عصاره عناب از طریق خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است، به نظر می‌رسد که اثرات هیپولیپیدمیک عصاره عناب عمدتاً از طریق تاثیر بر جذب و در حد کمتر از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز چربی بروز کرده است. نتایج مطالعه Xiangchun در سال ٢٠٠٩ نشان داد که عناب می‌تواند با رادیکال‌های آزاد ترکیب شده و اثرات توکسیک آنها را کاهش دهد که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد (٤٢). Sharif و همکارانش در سال ٢٠٠٩ نیز تأ کید کردند که احتمالاً عناب دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است و استرس اکسیداتیو را می‌تواند کاهش دهد (٣٨). Kaeidi و همکاران در سال ٢٠١٥ نشان دادند که عناب می‌تواند باعث کاهش اثرات استرس اکسیداتیو در دیابت قندی گردد که در نتیجه افزایش گلوکز و چربی ایجاد می‌گردد (٢٢). این اثر در نتیجه جلوگیری از تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و وقوع آپوپتوزیس می‌باشد که می‌تواند نشانی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی عناب محسوب شود.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره میوه عناب مانع از وقوع بیماری کبد چرب در موارد تغذیه با رژیم غذایی پرچرب شده و نقش خود را احتمالاً از طریق ممانعت از افزایش چربی سرم و افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی اعمال می‌دارد. لازم به تذکر است که این مطالعه روی مدل آزمایشگاهی انجام پذیرفته و اینکه آیا این ماده دارای اثرات مشابهی بر روی انسان هست یا خیر، مطالعات آتی گسترده‌تری را می‌طلبد.

فهرست منابع

١. ابراهیمی، ا. (١٣٨٤): تفسیر بالینی آزمایش‌های پزشکی، انتشارات تیمورزاده، (نشرطبیب)، تهران، ایران، ٤٧٠-٢٢٧.

٢. احسانی زنوز، ع.، بهمنی، ف.(١٣٨٩): بیوشیمی، چاپ دوم، انتشارات پوران پژوهش، ٤٣٨ و ١٢٩.

٣. اشرفی، ک.، اسمعیلی، ا.، شاهین فرد، ن.، انصاری، ر.، پروین، ن.، نامجو، ع، برجیان، س.، شیرزاد، ه.، منصوری ،ش. رفیعیان، م. (١٣٨٩): اثر عصاره ی هیدروالکلی عناب بر فرآیند التیام زخم سوختگی، مجله دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد،١٢(٤): ٨٢-٧٨.

٤. اطیابی، ن. (١٣٨٤): کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، جلد اول، چاپ اول،٢٤٥ - ٢٠١.

٥. امید بیگی، ر.(١٣٧٦): رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی، جلد اول،طراحان ناشر، تهران ،ایران،١١٠-١٠٩.

٦. امیدبیگی، ر.، دقیقی، س.(١٣٧٩): تاثیر سن پا جوش و زمان انتقال آن در تکثیر عناب مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، سال هفتم، شماره(٤)٥٨-٥٣ .

٧. زرگری، ع.(١٣٧١): گیاهان دارویی،جلد اول، چاپ پنجم ،انتشارات دانشگاه تهران، ٥٨٨-٥٨٧ و٦٠٥-٦٠١.

٨ . شهبازی، پ.، ملک نیا، ن.(١٣٨١): بیوشیمی عمومی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، جلد اول، چاپ بیستم، ٩٨ – ٦٢.

٩. شهبازی، پ.، ملک‌نیا، ن.(١٣٨١): بیوشیمی عمومی، موسسه انتشارات وچاپ دانشگاه تهران، جلددوم، چاپ بیست و یکم،٣٦٠-٧٥.

١٠. قهرمان، ا .(١٣٧٢): کروموفیتهای ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد دوم، چاپ اول، مرکز نشر دانشگاهی تهران.

١١. کاتزونگ، ب.گ. (١٣٨١): فارماکولوژی پایه و بالینی، انتشارات تیمورزاده، (نشرطبیب)، تهران، ایران،١١٠ – ١٠٠.

١٢ . میرحیدر، ح.(١٣٧٢): معارف گیاهی، جلد ششم، ٤١٢-٤٠٨.

13. Al -Awadi, F. M., Anim, J. T., Srikumar, T. S., Al- Rustom, M. (2004): Possible role of trace elements in the hypoglycemic effect of plants extract in diabetic rats. J. Elem. Exper. Med. 17(1): 31-44.

14. Angulo, P. (2002): Non alcoholic fatty liver disease, N. Engl. J. Med. 18 (346): 1221–1231.
15. Brunt, E.M., Janney, C.G., Di Bisceglie, A.M., Neuschwander Tetri ,B.A., Bacon, B.R. (1999): Nonalcoholic steatohepatitis. a proposal for grading and staging the histological lesions. Am. J. Gast. 94(9): 2467-2474.
16. Claiborne, A. L. (1985): Catalase activity. CRC handbook of methods for oxygen radical research. 1: 283-284.
17. Chance, B., Greenstein, D.S., Roughton, R.J.W. (1952): The mechanism of catalase action. 1. Steady-state analysis. Arch Biochem Biophys. 37(2):301-321.
18. Chidambarama, J., Venkatraman, A.C. (2010): Cissus quadrangularis stem alleviates insulin resistance, oxidative injury and fatty liver disease in rats fed high fat plus fructose diet. Food and Chemical Toxicology. 48(8-9): 2021-2029.
19. Curtis, S.J., Mortiz, M., Sondgrass, P.J. (1972): Serum enzyme derived from liver cell fractions. The response of carbon tetrachloride intoxication in rats. Gastroentrology. 62(1): 84-92.
20. Drotman, R., Lawhan, G. (1978): Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. Drug Chem Toxicol. 1(2): 163-171.
21. Jaydari, F., Johari, H., Taati, M., Asadian, P., Alirezaei, M., Sheikhzadeh, F. (2011): The effects of fruit extract on catalase activity and lipid peroxidation in the heart and erythrocytes of rats following chronic ethanol consumption. Int. J. Vet. Res. 5(3): 179-183.
22. Kaeidi, A., Taati, M., Hajializadeh, Z., Jahandari, F., Rashidipour, M. (2015) Aqueous extract of Zizyphus jujuba fruit attenuates glucose induced neurotoxicity in an in vitro model of diabetic neuropathy. Iran J Basic Med Sci. 18:301-306.
23. Kind, P. R. N., King, E. J. (1954): Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino antipyrine. J. Clin. Path. 7(4): 322.
24. Koteish, A., Diehl, A.M. (2001): Animal models of steatohepatitis. Semin Liver Dis., 21(1): 89-104.
25. Kumar, P. S. R., Asdaq, S. M., Kumar, P. N., Asad, M., Khajuria, D. K. (2009): Protective effect of Zizyphus jujuba fruit extract against paracetamol and thioacetamide induced hepatic damage in rats. Int. J. Pharma. 7(1): 2.
26. Lee, G., Luna, H. T. (1988): Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. Third Edition. The Blakiston Division Mc Graw. Hill Book Company. 32- 107.
27. Lil, J.L., Stantman, F.W., Lardy, H.A. (1988): Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Arch Biochem Biophys. 263(1): 150-156.
28.Lowry, O.H. , Rosebrough, N.J. , Farr, A.L. , Randall, R.J. (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. (193): 265-275.
29. Malloy, H.T., Evelyn, K.A. (1937): The determination of bilirubin level with the photoelectric colorimeter. J. Biol. Chem. 119: 481-484.
30. Mohandas, J., Marshall, J. J., Duggin, G. G., Horvath, J. S., Tiller, D. J. (1984): Differential distribution of glutathione and glutathione-related enzymes in rabbit kidney: possible implications in analgesic nephropathy. Biochem. Pharmacol. 33(11): 1801-1807.
31. Muriel, P., Garciapiña, T., Perez-Alvarez, V., Mourelle, M. (1992): Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. J Appl Toxicol. 12(6): 439-442.
32. Naik, S.R. (2003): Antioxidants and their role in biological functions: An overview. Indian Drugs. 40(9): 501-16.
33. Nishikimi, M., Rao, N. A., Yagi, K. (1972): The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen .Biochem. and biophys. res. comm. 46(2): 849-854.
34. Peterhans, E. (1997): Oxidants and antioxidants in viral diseases.disease mechanisms and metabolic regulation. J. nut. 127(5): 962S-965S.
35. Reitman, S., Frankel, S. (1957): A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Pathol. (28): 56-63.
36. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., Hoekstra, W.

(1973): Selenium biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Sci.179 (4073): 588-590.
37. Salvemini, D., Cuzzocrea, S. (2003): Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine. Critical care medicine. 31(1): S29-S38.
38. Sharif, M., Vivek, KB., Sun Chul K. (2009): Antioxidant , antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from Zizyphus jujube. Food and Chemical Toxicol. 47: 2374 – 80.
39. Sheng, L., Qian, Z., Zheng, S., Xi, L. (2006): Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: crocin inhibits pancreatic lipase. Euro j of Pharma. 543(1): 116-122.
40. Thabrew, M.I., Joice, P.D., Rajatissa, W. (1987): A comparative study of the efficacy of Pavetta indica and Osbeckia octanda in the treatment of liver dysfunction. Planta Med. 53(3): 239-41.
41. Wang, J. Q., Li, J., Zou, Y. H., Cheng, W. M., Lu, C., Zhang, L., Hu, C. M. (2009): Preventive effects of total flavonoids of Litsea coreana leve on hepatic steatosis in rats fed with high fat diet. J of ethnopharma. 121(1):54-60.
42. Xiangchun. S., Yuping. T., Ruihui. Y., Li. Y., Taihui. F., Jin-ao. D. (2009): The protective effect of Zizyphus jujube fruit on carbon tetrarch lorideinduced hepatic injury in mice by anti-oxidative activities. Ethnopharmacol. 122: 555 – 60.
43. Zou, Y., Li, J., Lu, C., Wang, J., Ge, J., Huang, Y. Wang, Y. (2006): High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life sciences. 79(11): 1100-1107.