فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۳، جلد ۹، شماره ۲، بهار۹۵، صفحه ۶۳ تا ۷۱

بررسی اثر میوه زرشک زرافشان بر عملکرد و بافت کبد در موش های صحرایی نر بالغ تحت تیمار با اتانول

شیوا شکوری نیا [۱]، مهرداد شریعتی [۲]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیولوژی، واحدکازرون، دانشگاه آزاد اسلامی،کازرون. ایران.
۲-دانشیار، گروه بیولوژی، واحدکازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون. ایران. mehrdadshariati@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۹٤/۱۰/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه مصرف الکل سبب ایجاد بیماری‌ها و ناهنجاری‌های مختلف به خصوص اختلالات کبدی می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر میوه زرشک زرافشان(*Bereberis integerrima*) بر سطح سرمی آنزیم های کبدی(ALP, AST, ALT, GGT)، میزان آلبومین و پروتئین تام و تغییرات بافت کبد به دنبال مصرف اتانول می باشد.

روش کار: در این مطالعه به منظور القای آسیب کبدی، از اتانول استفاده شد.۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۱٦۰تا۲۲۰ گرم به صورت تصادفی در ۵ گروه۱۰تایی:۱)گروه کنترل،۲)گروه شاهد مثبت(دریافت کننده الکل ۲۰٪)، ۳)گروه شاهد منفی(دریافت کننده دوز mg/kg ۲۰۰ زرشک)گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب(۲۱ روز اول الکل ۲۰ ٪ و ۲۸ روز دوم دوز mg/kg ۱۰۰و ۲۰۰ زرشک زرافشان) تقسیم گردیدند.پس از خون گیری و جداسازی سرم، میزان فعالیت آنزیم های کبدی(AST,ALT,ALP,GGT) و آلبومین و پروتئین تام درون سرم سنجش و به منظور مطالعات هیستوپاتولوژی کبد، مقاطع بافتی تهیه شد.

یافته ها: نتایج تغییرات یکسان وزن بدن و کبد را در گروه های دریافت کننده اتانول و زرشک نسبت به گروه های شاهد و کنترل نشان داد. میزان تغییرات آنزیم های AST، ALT، ALP، GGT، پروتئین تام و آلبومین در گروه های تجربی دریافت کننده زرشک نسبت به گروه تیمارشده با اتانول در سطح p ۰/۰۵ معنی دار بود. مطالعات بافتی نشان داد،که در گروه تیمار شده با اتانول مناطق وسیع خالی از سلول های هپاتوسیت وجود دارد و روند بهبودی در گروه های تجربی دریافت کننده عصاره میوه مشاهده گردید.

نتیجه گیری: مصرف عصاره میوه زرشک زرافشان در دوز ۲۰۰ به علت داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی و فلاونوئید بیشتر، باعث محافظت سلول های کبدی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول می شود.

واژه های کلیدی: زرشک زرافشان، اتانول، کبد، موش صحرایی.

مقدمه

مصرف الکل امروزه به عنوان یک معضل اجتماعی است که هم سبب تحمیل هزینه های هنگفت پزشکی و هم سبب ایجاد بیماری ها و ناهنجاری های مختلف در بدن انسان به خصوص اختلالات کبدی و اثرات کوتاه مدت مصرف اتانول باعث کاهش فعالیت سیستم عصبی مرکزی می شود. کبد، اندام حیاتی برای تجزیه، سم زدایی و دفع مواد زاید و مضر از بدن می باشد. بیماری کبد الکلی اصطلاحی است که در برگیرنده علائم مصرف بیش از حد الکل در کبد، از جمله کبد چرب، هپاتیت الکلی، هپاتیت مزمن با فیبروز کبدی و یا سیروز است. الکل به طور طبیعی(۸۰ ٪) بعد از مصرف، توسط سه سیستم الکل دهیدروژناز، سیتوکروم P۴۵۰ و کاتالاز در کبد متابولیزه می گردد. طی متابولیسم الکل در کبد و فعال سازی میکروزوم های کبدی، ترکیبات متابولیکی توسط آنزیم های سیتوکروم $P_{۴۵۰}$(ایزوفرم- CYP2E1) تولید می‌شود که این مواد می توانند موجب آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد شوند(۳۹). مصرف الکل ظرفیت سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ در کبد را تا ۱۰ برابر افزایش می-دهد در نتیجه محصولات اکسیداتیو و آسیب های ناشی از آن افزایش می یابد(۱۲). مطالعات چند سال اخیر نشان داده است که مصرف الکل می تواند از طریق تشکیل

رادیکال‌های آزاد عوارض جبران ناپذیری به سلول وارد سازد(۲۵). آسیب های اکسایشی ناشی از مصرف الکل با متابولیسم آن ارتباط مستقیمی دارد. به علت این که متابولیسم الکل در تشکیل فرم های بسیار فعال اکسیژن(ROS) و فرم های فعال نیتروژن(RNS) درگیر می باشد موجب بیوترانسفورماسیون مشتقات رادیکال-های آزاد، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ سلولی حاد(نکروز) در بافت کبد می شود(۳۴، ۲۶). رادیکال-های آزاد، اتم یا مولکول های فعالی هستند که به دلیل وضعیت آخرین لایه ی اتمی آن ها میل ترکیبی شدیدی با سایر مولکول های اطرف خود مانند لیپیدهای غشای سلولی، لیپوپروتئین ها، پروتئین ها، کربوهیدرات ها، RNA، DNA دارند و در صورت عدم جلوگیری از فعالیت ترکیبی آن ها، می توانند منجر به تخریب بافتی و بروز اختلالاتی نظیر بیماری های قلبی، کبدی و سرطان شوند(۱۱). یکی از مهم ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد شروع پراکسیداسیون لیپیدها است که موجب آسیب غشای سلولی می گردد. اسیدهای چرب از اجزای اصلی غشای بیولوژیکی می باشند که برای اجزای مهم تشکیل دهنده غشا مانند فسفولیپیدها،گلیکولیپید و تری آسیل گلیسیریدها قالب های ساختمانی می باشند. اسیدهای چرب اشباع موجب سیالیت غشا می شوند، اما آسیب این مولکول های غیراشباع منجر به کاهش سیالیت غشا و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن می گردند. این رادیکال‌ها می توانند با آلکیله کردن گروه های پروتئینی و دیگر ماکرومولکول های سلولی و به همان نسبت حمله به اسیدهای چرب اشباع نشده منجر به تولید لیپید پراکسیداز شوند که این منجر به صدمات سلولی به خصوص سلول های کبدی می‌گردد. نکروز کبدی منجر به افزایش سطح سرمی آنزیم های شاخص کبد در خون می گردد.افزایش سطح آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، آلکالین فسفاتاز(ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) و گاماگلوتامایل ترانسفراز(GGT) به طور قراردادی نشان‌گر صدمات کبدی است(۹). هم چنین رادیکال های آزاد باعث آسیب میتوکندریایی سلول های کبدی شده و در نتیجه سلول‌ها توانایی استفاده از اکسیژن موجود را به اندازه کافی ندارند و شرایط هیپوکسی به وجود می آید و باعث نکروز بافتی می گردد(۱۲). از این رو مصرف ترکیبات آنتی اکسیدان می تواند یکی از راه های مناسب در جهت کاهش آسیب های استرس اکسایشی ناشی از مصرف الکل، مورد توجه قرار گیرد. مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی نیز شاخه ای از دارو درمانی مدرن بیماری ها را تشکیل می دهند. اگرچه عوامل دارویی متنوعی برای درمان انواع بیماری ها وجود دارد، لکن اغلب بیماران قادر به تحمل اثرات جانبی داروهای شیمیایی نیستند و از سوی دیگر اکثر گیاهان اثرات جانبی بسیار اندکی در بیماران به جای می گذارند(۲۹). از آن جایی که بی خطر بودن آنتی اکسیدان های صناعی همواره مورد سوال بوده است، گرایش به سمت مصرف ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی از جمله ویتامین C، ویتامین B، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدهای میوه ها، سبزیجات و دانه‌های روغنی می باشد که موجب جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال های آزاد می شوند، روز به روز در حال افزایش است(۳۸). بسیاری از ترکیبات گیاهی از جمله پلی فنل ها دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند(۱۱). ترکیبات پلی فنلی خصوصاً فلاونوئیدها اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی و رادیکال های آزاد دارند(۱۰). گیاه زرشک زرافشان از راسته آلالگان، تیره زرشکیان جنس زرشک، گونه*Berberis integerrima* است(۱). میوه زرشک بسیار مفید بوده و علاوه بر مصرف غذایی، خواص درمانی فراوانی نیز دارد. میوه زرشک حاوی ویتامین ها، مواد معدنی، ترکیبات پلی فنلی به خصوص فلاونوئید و دیگر ترکیبات آنتی اکسیدانی غنی می باشد این گیاه به جهت دارا بودن متابولیت های ثانویه هم چون

اکسی اکانتین، برمامین یالماتین، ژاتروریزین، کلومبامین و غیره دارای خواص دارویی بسیارمی باشد(۲۲، ۴). هم چنین خواص ضد سرطانی، فعالیت ضد باکتریایی، اثر حفاظتی بر روی کبد نیز دیگر خواص زرشک است(۴،۲۴،۳۰). بربرین یکی از ترکیبات گیاه است که می تواند در پیش گیری از اختلالات عروق کرونر موثر بوده و احتمالاً می تواند سطح کلسترول توتال و تری گلیسیرید راکاهش دهد. عمده ترین اثر بریامین، بلوک کانال کلسیمی است. مشخص گردیده که این آلکالوئیدها در آزمایشات پراکسیداسیون لیپیدی گلبول قرمز، فعالیت پراکسیداسیونی، می تواند اثرات ضد ایسکیمی میوکارد و ضد آریتمی داشته باشد. هم چنین اکسی‌آکانتین دارای یک عامل سمپاتولیتیکی و گشاد کننده عروق است(۱۴). یک مطالعه کنترل شده که توسط چینی ها صورت گرفته، نشان داده که بربرین باعث افزایش تولید نوعی گیرنده پروتئینی در کبد می-شود که با کلسترول باند شده و دفع آن را فراهم می-کند(۶). در میوه زرشک آنتوسیانیدین های دلفنیدین، پتونیدین و پئونیدین وجود دارد. کبد نقش مهمی درحفظ غلظت های طبیعی گلوکز در خلال موقعیت پس از صرف وعده ی غذایی بازی می نماید. عصاره میوه زرشک حاوی انواع فلاونوئیدها از جمله کوئرستین، کریسانتمین، هایپروزید و پلارگونین است(۱۶، ۳). هم چنین دارای ترکیباتی نظیرآسکوربیک اسید، آلفاتوکوفرول و بتاکاروتن که همگی جزءآنتی اکسیدان‌ها به شمارمی روند، هستند(۳۹). فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک در گیاهان دارویی دارای اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، جمع آوری رادیکال‌های آزاد و اثرات ضدالتهابی و ضدسرطانی می باشد(۷). زرشک حاوی ترکیبات غنی از جمله کوئرستین بوده که اثر حفاظتی در مقابل آسیب های کبدی ناشی از الکل را دارد(۲۶، ۲۴، ۱۵، ۱۳، ۹). زرشک زرافشان با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی از بیماری های مزمن ناشی از رادیکال های آزاد مثل سرطان پیشگیری می کند(۲۷). درمطالعات مشخص شده است میوه زرشک اثر حفاظتی خود را در برابر آسیب اکسیداتیو القاشده توسط تتراکلریدکربن درموش های صحرایی ازطریق تعدیل آنزیم های سم‌زدایی کننده و فاکتورهای آنتی اکسیدانی و جاروکنندگی رادیکال های آزاد اعمال می نماید(۱۳). هدف از این پژوهش بررسی اثرات میوه زرشک زرافشان در برابر آسیب های استرس اکسیداتیو القا شده توسط اتانول در موش های صحرایی از طریق میزان فعالیت برخی از آنزیم های کبدی(ALT، AST، ALP و GGT)، برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون(آلبومین و پروتئین تام)، وزن بدن و بافت کبد است.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی در گروه بیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شد. در این آزمایش ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۱۶۰تا۲۲۰ گرم، سن ۳-۵ ماه، مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات در دمای ۲±۲۳درجه سانتی گراد و در دوره تاریکی- روشنایی ۱۲ ساعته نگه داری و به آب و غذا به میزان نامحدود دسترسی داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی در قالب گروه های کنترل، شاهد مثبت، شاهد منفی، تجربی ۱ و ۲ تقسیم شدند. حیوانات گروه کنترل هیچ تیمار دارویی یا غیر دارویی بر روی آن صورت نگرفت. گروه شاهد مثبت روزانه فقط ۲ سی سی محلول آب و الکل ۲۰٪ به ازای هر سر موش به صورت خوراکی دریافت کردند(۳۷). گروه شاهد منفی ۲ سی سی عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن هر سر موش به صورت خوراکی دریافت کردند(۲۱، ۲). گروه تجربی ۱ به مدت ۲۱ روز اول ۲ سی سی آب و الکل ۲۰ ٪ و ۲۸ روز دوم ۲ سی سی از

عصاره ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم و گروه تجربی ۲، ۲۱ روز اول ۲ سی سی آب و الکل ۲۰ ٪ و ۲۸ روز دوم ۲ سی سی از عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ازای هر سر موش دریافت کردند(۱۳).

تهیه عصاره

دراواخرتابستان میوه های زرشک زرافشان از اطراف شهر بوانات استان فارس جمع آوری و پس از شستشو در سایه خشک شدند. ۱۰۰۰گرم پودر زرشک در ۵۰۰ سی سی اتانول ۹۵٪ به مدت۷۲ ساعت غوطه‌ور و برای به دست آوردن عصاره کامل از متد پرکولاسیون استفاده گردید(۵). عصاره به دست آمده، فیلتر و در تبخیرکننده-های چرخشی تحت فشار کاهش یافته تا زمانی که عصاره طبیعی نیمه جامد و فشرده به دست بیاید، تبخیر شد. دوزهای لازم(۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم) بر اساس میانگین وزن بدن موش های صحرایی ساخته شد.

روش تجویز عصاره

برای این کار از سرنگ دارای سر سوزن فیدر استفاده گردید. حیوانات هر روز صبح در ساعت معینی محلول آب و الکل ۲۰٪ و عصاره الکلی زرشک زرافشان بادوز-های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای وزن بدن موش های صحرایی را به صورت خوراکی دریافت می کردند.

بررسی های بیوشیمیایی

از گروه های کنترل، شاهد مثبت، شاهد منفی در روز بیست و دوم و در گروه های تجربی ۱ و تجربی ۲ در روز پنجاه هم پس از بیهوشی با اتر خون گیری از قلب به عمل آمد. از هر موش حدود ۴-۳ میلی لیتر خون در لوله آزمایش استریل فاقد ماده ضد انعقاد جمع آوری و پس از قرار دادآن ها در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سریعاً سرم آن جدا شد. میزان آنزیم های ALP،ALT،AST،GGT، پروتئین تام آلبومین بر اساس روش های استاندارد با استفاده از کیت های آنزیمی و بیوشیمیایی(شرکت پارس آزمون، ساخت ایران) توسط دستگاه اتوآنالیزر مدل RA-1000 ساخت شرکت Technicon کشور آمریکا اندازه گیری گردید.

بررسی های بافت شناسی

پس از خون گیری، کبد حیوانات خارج و به طور دقیق وزن شد. سپس به منظور انجام آزمایشات بافت شناسی کبد جهت پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ ٪ قرار داده و سپس بافت ها آب گیری و قالب گیری و برش های میکروتومی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با رنگ مضاعف هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند، پس از آن جهت بررسی سلولی و بافتی با میکروسکوپ نوری دوربین دار Nikon ساخت ژاپن ارزیابی گردیدند.

تجزیه وتحلیل آماری

داده های حاصل از نتایج به دست آمده به صورت میانگین± خطای استاندارد بیان شدند. آنالیز داده ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه انجام و تفاوت-های معنی دار میان گروه های مختلف توسط آزمون Tukey با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ارزیابی گردید(مرز استنتاج آماری سطح ۰/۵ p در نظر گرفته شد).

نتایج

به منظور بررسی تاثیر میوه زرشک زرافشان بر فعالیت فاکتورهای اختصاصی بیوشیمیایی سرم حیوانات مورد آزمایش، فعالیت چهار آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز(AST)، آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، آلکالین فسفاتاز(ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز(GGT)، میزان پروتئین تام و آلبومین، مورد ارزیابی قرار گرفت. همان طور که نتایج حاصله در جدول(۱و۲) نشان می دهد، مصرف الکل به مدت ۲۱ روز پی در پی میزان فعالیت این دسته از آنزیم ها به طور معنی داری(p ۰/۰۵)افزایش و میزان پروتئین تام و آلبومین را کاهش می دهند. تغییرات وزن کبد و وزن بدن در(p ۰/۰۵) معنی دار نبودند. در حالی که در

حیواناتی که هم تحت مصرف الکل و هم تحت درمان با عصاره میوه زرشک بودند، میزان این چهار آنزیم در مقایسه با حیواناتی که تنها الکل مصرف کرده بودند کاهش و میزان پروتئین تام و آلبومین افزایش کاملاً معنی داری نشان داد(p ۰/۰۵).

نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژی کبد

به منظور بررسی اثر میوه زرشک زرافشان بر روی بافت کبد، پس از رنگ آمیزی با رنگ مضاعف هماتوکسیلین- ائوزین، تغییرات آسیب شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت(شکل A -۱). نمای هیستوپاتولوژی کبد موش های گروه کنترل نشان می دهد که سینوزوئیدها و هپاتوسیت ها فاقد نکروز می باشند. در گروه شاهد مثبت(۲۱ روز الکل) نکروز وسیع همراه با التهاب مشاهده شد(شکل B-۱). درگروه شاهد منفی(۲۸ روزمصرف زرشک) نظم سلولی و حفظ حالت شعاعی و طبیعی بودن سلول کبدی مشاهده گردید(شکلC-۱). هم چنین در گروه تجربی ۱(۲۱ روز اول الکل و ۲۸ روز دوم عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم)، حداقل بهبودی دیده شد(شکلD-۱) و گروه تجربی ۲(۲۱ روز الکل و ۲۸ روز دوم عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم) نسبت به گروه قبلی بهبودی نسبتاً وسیع تر بود(شکلE-۱). احتمالاً خاصیت آنتی اکسیدانی میوه زرشک زرافشان موجب کاهش آسیب های بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو شده است.

بحث و نتیجه گیری

بیماری های کبدی یکی از بیماری های مهم در جهان بوده و اغلب داروهای شیمیایی مورد استفاده‌ی این بیماری ها دارای عوارض جانبی هستند(۲۳). کبد نقش محوری در تغذیه و متابولیسم ویتامین ها، ساخت پروتئین‌های حیاتی مثل آلبومین، فاکتورهای انعقادی و آپروپروتئین ها(۱۸)به کمک آنزیم ها را دارد. تغییر در میزان این آنزیم ها جهت ارزیابی عملکرد کبد مورد استفاده قرار می گیرد. آنزیم های ALP،AST،ALT و GGT علامت های سلامت کبد و عملکرد طبیعی کبد می باشند. افزایش میزان فعالیت آنزیم های ALT و AST می تواند تائید کننده افزایش نفوذ پذیری سلول یا نکروز شدن سلول های کبدی باشد(۱۷). آنزیم های غشایی ALP و GGT نیز بر حسب شرایط پاتولوژیکی در جریان خون رها می شود. از سوی دیگر، سطح سرمی آلبومین و پروتئین تام با عملکرد سلول های کبدی در ارتباط است(۳۶). مصرف بیش از حد الکل می تواند افزایش بیش از حد فعالیت آنزیم های فوق را به همراه داشته باشد. این نتیجه می تواند تائید کننده آسیب جدی بافتی باشد. در طی متابولیسم الکل در کبد به علت فعالیت سیستم سیتوکروم.$P_{۴۵}$ رادیکال های آزاد تولید می شوند، که وجود این رادیکال ها می تواند سیستم تدافعی آنتی اکسیدان سلول را تحت الشعاع قرار دهد(۲۶،۳۱). نتایج مصرف مزمن الکل ترشح سایتوکاین التهابی (TNFآلفا،اینترلوکین۶[IL6] و اینترلوکین۸ [IL8])، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و سمیت استالدهید است. این عوامل باعث التهاب، آپوپتوز و در نهایت سلول های کبدی دچار فیبروز می شود(۲۸). با توجه به نقش رادیکال های آزاد و مراحل اکسیداسیون در روند اغلب بیماری ها به نظر می رسد استفاده از مواد مکمل با خاصیت آنتی اکسیدانی بتواند آسیب های ناشی از مصرف الکل را متوقف و یا به حداقل برساند. در سال‌های اخیر استفاده از منابع طبیعی خصوصاً گیاهان با توجه به دارا بودن ترکیبات فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی همواره مورد توجه بوده است. منابع گیاهی می‌توانند بافت ها را از آسیب ها و رادیکال های آزاد حفظ کنند. هم چنین مکمل های غذایی همراه با آنتی اکسیدان های طبیعی مثل ویتامین ها و فلاونوئید ها می-توانند آسیب های استرس اکسایشی ناشی از مصرف الکل را به حداقل برساند. ترکیبات فنلی به علت این که

قادرند رادیکال های آزاد را از محیط پاکسازی کنند به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته شده اند(۳۲). ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در مواد غذایی نظیر ویتامین ها، پلی فنل ها، فلاونوئید ها و کاروتن ها از مهم‌ترین و اصلی ترین سیستم تدافعی، جهت تنظیم میزان رادیکال های آزاد تحت شرایط استرس می باشند. استرس اکسیداتیو را ناشی از عدم تعادل در سیستم پرواکسیدان/ آنتی اکسیدان بیان نموده اند(۳۵). نتایج این بررسی در مورد خصوصیات اثرات آنتی‌اکسیدانی و زدایش رادیکال های آزاد زرشک باگزارش سایر محققین هم خوانی دارد، ازجمله احمدمجد و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثرات آنتی اکسیدانی زرشک زرافشانی را تأیید کردند(۲۷). هم چنین هاناچ در سال ۲۰۰۶ گزارش نمودکه میوه گیاه زرشک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است(۲۰، ۱۹). گیاهان در درمان مسمومیت و بیماری های کبدی در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته بودند که بسیاری از آن ها حاوی ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدها می باشند(۸). این خاصیت آنتی اکسیدانی میوه زرشک به اجزای موجوددرعصاره مانند ترکیبات بتاکاروتن، ویتامینC، هیدروکسی تولوئن بوتیله، ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها بستگی دارد(۲۰). بنابر این با توجه به این که فلاونوئیدهای گیاهی به عنوان ترکیبات پلی فنلی از مهم ترین آنتی اکسیدان ها محسوب می شوند(۳۳، ۱۲) و نیز دارای اثرات محافظ کبد هستند(۲۴) با مصرف عصاره میوه زشک زرافشان در کنار اتانول، فقط تغییرات دژنراتیو خفیف مشاهده گردید و اثری از نکروز دیده نشد که این خود اثرات حفاظتی زرشک زرافشان را در مقابل سمیت کبدی اتانول نشان می دهد. مطالعات هیستوپاتولوژی با نتایج به دست آمده از این بررسی هم خوانی داشته و آن ها را مورد تائید قرار می دهد. اثرات مفید فوق را می توان به اثرات آنتی اکسیدانی و کاهش استرس های اکسیداتیو ترکیبات موجود در میوه زرشک زرافشان مربوط دانست. توضیح ممکن در این رابطه این است که عصاره از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی باعث تثبیت غشاءهای سلولی شده و مانع از نشت آنزیم ها می گردد. میوه زرشک زرافشان به علت داشتن توانایی بالا در حذف رادیکال های آزاد می تواند سطح و توانایی سیستم تدافعی آنتی اکسیدان را در شرایط تقریبا طبیعی نگه دارد(۲۷، ۱۹، ۱).

.

جدول ۱- اثر عصاره آبی-الکلی زرشک زرافشان بر تغییرات وزن کبد و بدن

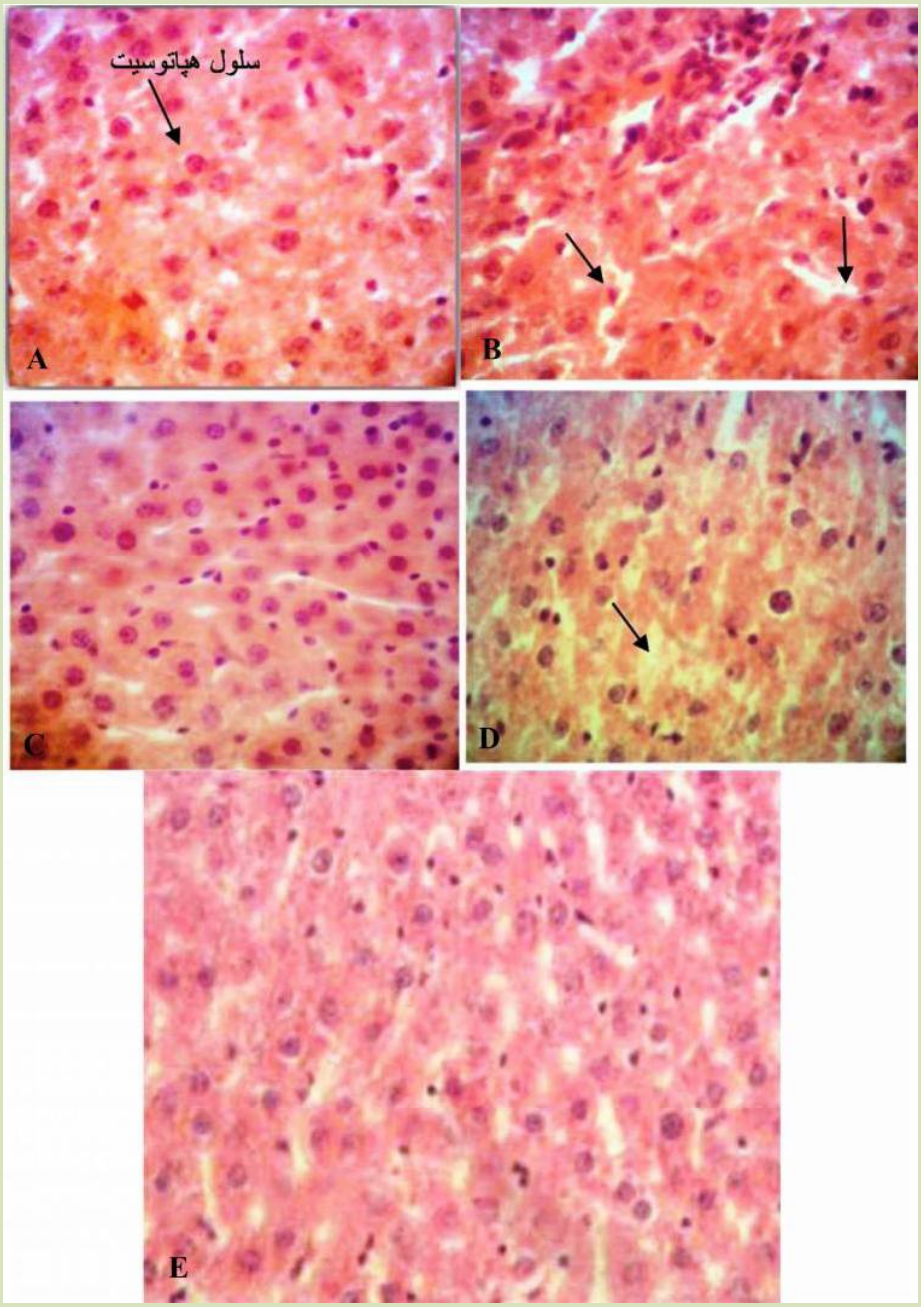
وزن(گرم)	کنترل	شاهد مثبت	شاهد منفی	تجربی ۱	تجربی۲
کبد	۷/۴۸±۰/۱۶	۷/۵۰ ± ۰/۲۳	۷/۹۵± ۰ /۳۰	۷/۵۵ ± ۰/۲۳	۷/۷۹±۰/۲۰
	۲۰۵ ± ۴/۹۳	۲۱۲ ± ۰/۵۹	۱۸۸/۵ ± ۲/۹۸	۲۱۵ ± ۶/۳۷	۲۱۶± ۵/۳۷

اختلاف معنی داری در میانگین وزن بدن و کبد در میان گروه های مورد آزمایش وجود ندارد

جدول ۲- اثر عصاره آبی-الکلی زرشک زرافشان بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی

آنزیم	کنترل	شاهد مثبت	شاهد منفی	تجربی ۱	تجربی ۲
ALT(U/L)	۸۰/۸۵±۱/۴۸^{a}	۱۰۰/۷۱±۳/۸۲^{b}	۷۹/۷۱±۱/۸۹^{a}	۹۰/۵۷±۱/۷۸^{c}	۸۲/۵۷±۱/۰۶^{a}
AST(U/L)	۲۴۱/۷۱±۹/۹۰^{a}	۳۵۷/۱۴±۱۴/۷۵^{b}	۲۴۸/۱۴±۶/۲۳^{a}	۳۰۴/۸۵±۱۵/۰۶^{c}	۲۴۵/۴۲±۴/۸۲^{a}
ALP(U/L)	۳۲۱/۸۵±۷/۱۸۹^{a}	۴۲۲/۵۷±۶/۳۳^{b}	۳۱۵/۰۰±۳/۳۱^{a}	۳۸۸/۸۵±۵/۸۳^{b}	۳۳۳/۱۴±۵/۱۹^{a}
GGT(U/L)	۲/۳۰±۰/۱۲^{a}	۴/۰۲±۰/۲۸^{b}	۲/۲۵ ± ۰/۰۶^{a}	۳/۱۰ ±۰/۰۸^{c}	۲/۶۲±۰/۰۸^{a}
آلبومین(mg/dl)	۵/۱۴±۰/۱^{a}	۳/۸۵±۰/ ۱^{b}	۵/۱۸±۰/۱۷^{a}	۴/۷۰±۰/۱۳^{c}	۴/۹۴±۰/۰۵^{a}
(md/dl)	۸/۵۰±۰/۲۱^{a}	۶/۷۷±۰/۱۵^{b}	۸/۷۷±۰/۱^{a}	۷/۷۰±۰/۰۶^{c}	۸/۱۰±۰/ ۱۱^{a}

میانگین ±SE سه تکرار، داده هایی در ستون ها که فاقد حرف لاتین مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).



شکل ۱- اثر عصاره آبی-الکلی زرشک بر روی بافت کبد موش

A) گروه کنترل: هپاتوسیت های طبیعی، B) گروه شاهد مثبت: دژنرسانس هیدروپیک شدید و نکروز هپاتوسیت ها، C) گروه شاهد منفی هپاتوسیت ها ظاهری طبیعی دارد، D) گروه تجربی ۱: اتساع سینوزوئیدها، نکروز هپاتوسیت ها و التهاب آن مشاهده می شود، E) گروه تجربی ۲: سینوزوئیدها بدون اتساع و هپاتوسیت ها تقریباً فاقد نکروز است. رنگ شده باH&E (بزرگنمایی ۴۰۰ X).

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی تکوینی می باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون به تصویب رسیده و انجام شده است. بدین وسیله نویسنده مراتب سپاس را از تمام کسانی که در این پژوهش ما را یاری نموده اند، دارد.

منابع

14. Fatehi-Hassanabad, Z., Jafarzadeh, M., Tarhini, A., Andfatehi, M. (2005). Theantihypertensive and vasodilator effecta of aqueus extract from *Berberis vulgaris* fruit on hypertensive rats. from *Berberis vulgaris* fruit on hypertensive rats. Phytother Res, 19; 222 - 225.

15. Ferre N, Camps K, Cabre M, Paul A, Joven J. (2001) . Hepatic paraoxygenase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. Metabolism, 50(9); 997-1000.

16. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. (2001). Oxidative stress induced neuro-dengenerative diseases: The need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. Neuropharmacol,40(8); 959-75

17. Goldberg,D.M.,Watts,C. (1965). Serum enzyme changes as evidence of liver reaction to oral alcohol .Gastroenterology,49;256-261

18. Hall,JE.,Editor.Guyton and hall textbook of medical physiology.12th ed.NewYork:Saunders ; (2010).p. 999-1006

19. Hanachi P, Kua SH, Asmah R, Motalleb G, Fauziah O. (2006). Cytotoxic effect of Berberis vulgaris fruit extract on the proliferation of human liver cancer line (HepG2) and its antioxidant properties. Int J Cancer Res, 2(1); 1-9.

20. Hanachi P, Golkho SH.(2009). Using HPLC to determination the composition and antioxidant activity of *Berberis vulgaris*. Eur J Sci Res, 29(1); 47-54.

21. Husain, K., Scott, BR., Reddy, SK.,Somani, SM. (2001). Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. Alcohol, 25(2); 89-97.

22. Ivanovska, N., Phlipov, S. (1999). Study on the anti-inflammatory action of *Berberis vulgaris* root extract, alkaloid fractions and pure alkaloid. Int J Ethnopharmacol, 64(2); 161-66.

23. Janbaz, K.H., Saeed, S., Gilani, A.H. (2002). Protective effect of rutin on paracetamol and CCl_4 induce hepatotoxicity in rodents. Fitoterapia, 73; 557-64.

24.Jamshidzadeh, A., Niknahad, H. (2006). Hepatoprotective activity of *Berberisintegerrima* Bge extract in rats treated with CCl4: In vitro and in vivo studies. ToxicolLett, 164(1); S310.

25. Kumar, D.S., Vasudevan, D.M. (2004). Alcohol induced oxidative stress. LifeSci, 3; 177-187.

۱- زرگری، ع.۱۳۷۱. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. جلد اول. ص ۸۳-۷۲.

۲- بصیری، م. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر تجویز اتانول و نیکوتین بر کیسه منی موش صحرایی بالغ. فصل نامه ناباروری و باروری. جلد ۱۲. شماره ۲. ص ۱۰۹- ۱۱۵.

۳-ضرغامی مقدم، م. ۱۳۹۰. اکوفیوزیولوژی زرشک. محیط زیست ایران. دوره ۲۴. شماره ۳. ص ۵۵-۵۱.

٤-ملک پور،الف. ۱۳۶۲. اصول بیوشمیایی بالینی. ص ۳۱۷-۲۸۳.

5.Abdulaziz, B. (2013). *Scholarly articles for In vivo evaluation of ethanolic extract of Zingiber officinale* rhizomes for its protective effect against liver cirrhosis. BioMed Research International, 9-10.

6.Arayne, MS., Sultana, N., Bahadur, SS. (2007). The berberisstory: *Berberis vulgaris* in therapeutics. Pak J Pharm Sci, 20; 83-92.

7.Ashraf, H., Heidari, R., Nejati, V., Ilkhanipoo, M. (2013). Aqueous extract of *Berberis integerrima* root improves renal dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. AJP, 3(1); 82-90.

8.Carreon, JP ., Iimenez, GC., Vega, JI. (2002). Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver cell cultures treated with Diethylnitrosamine.Toxicol in vitro, 16; 235-58.

9.Catherin, A., Evans, R., Nicholas, JM., Geoge,P. (1996) .Structure antiozidante activity relationship of flavonoids and phenolic acid. FreeRadicBiol Med, 20; 933-56.

10. Chattopadahyay, RR. (2003). Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: Part II. J Ethnopharmacol, 89(2-3); 217-9.

11. Chen, JW., Zhu, ZQ., Hu, TX., Zhu, DY. (2002). Structure activity relationship of natural flavonoids in hydroxyl radical scavenging effects. ActaPharmacol Sin, 23; 667-72.

12. Dahiru, L., Obidoa, B. (2007). Pretreatment of albino rats with aqueous leaf extract of *Ziziphus mauritiana* protects against alcohol-induced liver damage. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 6(2);705-710.

13. Eidi, A., ZarinGhalam, J., RezazadeSh, Adeli R. (2011). Hepatoprotective effect of *Berberis vulgaris* L. extract on ccl4-induced toxicity in rats. Kowsar Medical J,16(3); 169-173. [Full Text in Persian]

26. Liber,C.S. (2000). Alcohol its metabolism and interaction with nutrients. Annu.Rev.Nutr, 20; 395-430.

27. Majd, A., Mehrabian, S., Mostafai, H. (2008). Antioxidant and anticancer effect of aqueous extract of *Berberis integerrima*. J. Biol.Sci, 1(1); 31-8.

28.Menon, KV., Gores, GJ., Shah, VH. (2001). Pathogenesis, diagnosis, and treatment.

29. Mohajeri, D., Doustar, Y., Rezaei, A., Mesgari-Abbasi, M. (2011). Hepato protective effect of ethanolic extract of *Crocus sativus* L. (Saffron) stigma in comparison with silymarin against rifampin induced hepatotoxicity in rats. Zahedan J Res Med Sci, 12(5); 53-9.

30. Murugesh, KS. (2005). Hapato protective and antioxidant role of *Berberis incrotialesch* leaves on paracetamol induce hepatic damage in Rat. IJPT, 4; 64-69.

31. Nordman, R. (1994). Alcohol and antioxidant system. Alcoholism and Alcohol, 29; 513-522.

32. Osawa,T., Kato,Y. (2007). Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Ann.NT.Acad .Sci, 1043; 440-451.

33. Pyo, YH., Lee, TC., Logendra, L., Rosen, RT. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of *Swiss chard* (*Beta vulgaris* subspecies cycla) extracts. Food Chem, 85(1); 19-26.

34. Recknagel, RO., Glende, EA., Dolak, J A., Waller, RL. (1989). Mechanism of carbon tetra chloride toxicity. Pharmacol Ther, 43; 139-154.

35.Sies, H. (1985). Oxidative stress introductory remarks oxidative stress. New York Academic Journal, 5; 1-8

36.Stockham, SL., Scott, MA. (2002). Fundamentals of veterinary clinical pathology. Ames :Iowa State University Press, 434-59.

37. Sudha, A. (2012). Protective effect and antioxidant role of *Achyranthus aspera* L. against ethanol-induced oxidative stress in rats. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.

38. Sun, F. (2000). Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. Biochimicaet Biophysica Acta, 1500; 181-185.

39. Tuma, DJ., Casey, CA. (2003). Dangerous byproducts of alcohol breakdown focus on adducts . Alcohol. Res. Health, 27(4); 285-290.