DOI: 10.22100/jkh.v10i3.783

مقاله پژوهشی

مجله دانش و تندرستی، دوره ۱۰، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

اثر عصاره هیدرواتانولی میوه گیاه زرشک (Berberis Vulgaris L.) بر بیلیروبین و آنزیم‌های کبدی سرم خون موش‌های صحرایی نر کلستاتیک

ناصر میرازی*[۱]، فرزانه توحیدی[۲]، عبدالکریم حسینی[۳]

۱- دانشگاه بوعلی سینا- دانشکده علوم پایه- گروه زیست‌شناسی.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان- دانشکده علوم پایه- گروه زیست‌شناسی.
۳- دانشگاه شهید بهشتی- دانشکده علوم زیستی- گروه فیزیولوژی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۲۰، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۳/۱۰/۲۷

چکیده

مقدمه: *اختلالات کبدی اغلب با افزایش بیلیروبین خون و آنزیم‌های کبدی در پلاسما همراه هستند. در این بررسی اثر پایین‌آورندگی بیلیروبین خون گیاه زرشک (Berberis vulgaris) مورد بررسی قرار گرفت.*

مواد و روش‌ها: *در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سرموش صحرایی نر ویستار با محدوده وزنی ۲۲۰-۲۵۰ گرم به‌طور تصافی در شش گروه کنترل، شم، کلستاز، کلستاتیک درمان شده با عصاره زرشک (دوزهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، روزانه به‌مدت یک هفته) و کلستاتیک درمان شده با داروی فنوباربیتال (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. موش‌ها با عمل لاپاراتومی و بستن مجرای صفراوی مشترک به کلستاز مبتلا شدند. بعد از سه روز در موش‌ها کلستاز ایجاد و هایپربیلیروبینمی به وقوع پیوست. در پایان آزمایش، نمونه‌های خون به‌طور مستقیم از قلب موش‌ها تهیه و سرم آنها جدا و بیلیروبین کل، مستقیم و غیرمستقم و آنزیم‌های کبدی توسط کیت الایزا اندازه‌گیری شدند. اختلاف داده‌ها با $P< ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.*

نتایج: *این بررسی نشان داد که موش‌های کلستاتیک درمان شده با عصاره زرشک به‌مدت یک هفته از کاهش معنی‌دار بیلیروبین خون و آنزیم‌های کبدی نسبت‌به گروه‌های کنترل و کلستاتیک درمان شده با داروی فنوباربیتال برخوردار شدند ($P< ۰/۰۱$).*

نتیجه‌گیری: *اثر کاهش‌دهندگی بیلیروبین خون و آنزیم‌های کبدی توسط عصاره زرشک احتمالاً به‌واسطه اثر ترکیبات موجود در این گیاه نظیر بربرین بر روی کبد و دفع بیشتر بیلیروبین از طریق کلیه‌ها می‌باشد.*

واژه‌های کلیدی: زرشک، بیلیروبین، کلستاز، آنزیم‌های کبدی، موش صحرایی.

***نویسنده مسئول:** همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، کدپستی ۶۵۱۷۴، **تلفن:** ۰۹۱۸۸۱۲۵۷۴۱، **نمابر:** ۰۸۱۳۸۳۸۱۰۵۸، **Email:**mirazi@basu.ac.ir

ارجاع: میرازی ناصر، توحیدی فرزانه، حسینی عبدالکریم. اثر عصاره هیدرواتانولی میوه گیاه زرشک (Berberis Vulgaris L.) بر بیلیروبین و آنزیم‌های کبدی سرم خون موش‌های صحرایی نر کلستاتیک. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۴؛۱۰(۳):۵۹-۶۷.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بیماری‌های کبدی از جمله هپاتیت‌ها با هایپربیلیروبینمی و افزایش شدید آنزیم‌های کبدی مانند آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در خون همراه می‌باشند. شاخص‌ترین علایم کلینیکی در این بیماران زردی در پوست و چشم‌ها و ادرار غلیظ و قهوه‌ای رنگ می‌باشد (۱). در برخی از بیماری‌های کبدی نظیر کلستاز، ناشی از انسداد مجاری صفراوی و یا آثار برخی ویروس‌ها (مانند هپاتیت ویروسی A)، با بالا رفتن بیلیروبین سرم و آنزیم‌های کبدی همراه می‌باشند (۲ و ۳). یکی از راه‌های کاهش بیلیروبین خون و افزایش دفع آن از کلیه‌ها استفاده از ترکیبات دارویی خانواده باربیتورات‌ها نظیر فنوباربیتال سدیم می‌باشد. داروی فنوباربیتال برای درمان هایپربیلیرونمی در نوزادان و درمان کلستاز مزمن و کاهش تشنجات ناشی از تب کودکان استفاده می‌شود (۴). علت استفاده از این دارو در دو حالت فوق‌الذکر به این دلیل است که داروی فنوباربیتال باعث فعال شدن آنزیم کبدی یوریدین دی فسفو گلوکرونیک ترانسفراز (UDPGT) شده که در نتیجه بیلیروبین بیشتری کونژوگه می‌گردد و دفع بیلیروبین بیشتری از راه ادرار صورت می‌پذیرد (۵). عوارض جانبی باربیتورات‌ها مانند کاهش هشیاری، حساسیت مفرط، اختلال عملکرد کلیوی و کبدی، هیپوتانسیون و اختلالات قلبی- عروقی مصرف آنها را با محدودیت بیشتری همراه کرده است (۴).

رویکرد استفاده از گیاهان دارویی در درمان برخی از بیماری‌ها از جمله یرقان از قدیم‌الایام صورت می‌گرفته است (۶). داروهای گیاهی معمولاً به‌دلیل داشتن عوارض جانبی کمتر، مقرون به صرفه بودن و آثار درمانی مناسب می‌توانند جایگزین یا مکمل بسیار مناسبی برای داروهای صناعی باشند (۱). از جمله گیاهان دارویی مورد استفاده زرشک می‌باشد که در متون طبی قدیم به آن اشاره شده است (۷). گیاه زرشک از خانواده بری بریداسه می‌باشد. از این گیاه در طب سنتی به‌عنوان مقوی کبد و قلب، صفرا بر، مسکن حرارت معده و بند آورنده سیلان خون در بیماری بواسیر نام برده شده است (۶). این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی متنوعی از جمله بربرین است که نوعی آلکالوئید ایزوکوئینولین است که دارای خواص و آثار دارویی زیادی می‌باشد (۱). تحقیقات صورت گرفته بر روی این گیاه نشان داده است که عصاره زرشک دارای آثار ضد دیابتی، ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی (۸)، آنتی‌باکتریایی به‌ویژه بر روی باکتری هلیکوباکتر پیلوری (۹)، اثر تنظیم‌کنندگی فعالیت قلبی- عروقی (۱۰)، همچنین این گیاه دارای آثار متنوعی در کبد و تغییر آنزیم‌های کبدی (۱۱)، مهار انقباض عضلات صاف و مهار روند التهاب و تجمع پلاکتی و تحریک وترشح صفرا (۱۲)، اثر کنترل‌کنندگی روند ایجاد اسهال و بیماری التهاب روده‌ای و کولیت (۱۳ و ۱۴) می‌باشد. همچنین بربرین را به‌عنوان مقوی معده و ضد استفراغ در دوره بارداری توصیه کرده‌اند (۹). خاصیت ضد سمی ترکیبات موجود در ریشه گیاه زرشک در کاهش آنزیم آلکالین فسفاتاز کبد موش صحرایی القاء شده با کلروفرم نشان داده شده است (۱۳).

از آنجایی‌که در مورد عصاره میوه گیاه زرشک در روند ترشح و یا متابولیزه کردن بیلیروبین خون در بیماری کلستاز تحقیقی صورت نگرفته است و فقط به‌طور تلویحی به آثار ضد یرقانی آن اشاره شده است، بر آن شدیم تا تأثیر عصاره این گیاه را در روش حیوانی بیماری کلستاز در موش‌های صحرایی نر و سطح بیلیروبین و آنزیم‌های کبدی در سرم آنان را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سر رت نر ۸ هفته‌ای به وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم از نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهران خریداری و به مدت ۱۰ روز در قفس‌های مخصوص نگهداری در اتاق حیوانات با دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و شرایط ۱۲ساعت تاریکی و ۱۲ساعت روشنایی نگهداری شدند. موش‌ها به آب و غذای استاندارد به‌صورت آزادانه دسترسی داشتند. سپس حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه تقسیم شدند: ۱)گروه کنترل، ۲)گروه شم، ۳) گروه کلستاز (بدون درمان)، ۴ و ۵) گروه کلستاز درمان شده با عصاره زرشک (دوز ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۶) گروه کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال سدیم (دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، شرکت کیمیدارو). پروتکل این تحقیق براساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و همچنین کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام گردید.

پروتکل عصاره‌گیری در این مطالعه براساس گزارشات قبلی انجام شد (۱۵). بدین صورت که جهت تهیه عصاره میوه زرشک ابتدا ۴ کیلوگرم میوه گیاه زرشک تهیه شد. شناسایی تاکسونومیکی این گیاه توسط متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان صورت گرفت. سپس میوه گیاه زرشک در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط سایه به‌طور کامل خشک شد. پس از آسیاب کردن به‌صورت پودر درآورده شد. پودر حاصل از میوه زرشک را در الکل ۸۰ درصد (۸۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹۶ درجه و ۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر) ریخته و محلول حاصل را پس از ۷۲ ساعت که در یخچال نگهداری شده بود توسط کاغذ صافی صاف گردید. بعداً محلول صاف شده حاصل را جهت تغلیظ‌سازی در دستگاه روتاری قرار داده تا حلال آن جدا شود. عصاره حاصل را در داخل پتری دیش ریخته و در زیر هود قرار داده تا رطوبت آن خارج و کاملاً خشک شود. از عصاره به‌دست آمده ابتدا غلظت ۴۰ درصد تهیه شد. از محلول فوق غلظت معین با دوزاژ ۳۰۰ و

Archive of SID
www.SID.ir

۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم براساس گزارشات قبلی (۱۶) تهیه و توسط میکروفیلترهای سرنگی با منفذ ۰/۲۲میکرومتر استریل شد.

گروه‌های حیوانات (به جز گروه کنترل) ابتدا مورد عمل جراحی لاپاراتومی قرار گرفتند و عمل کلستاز روی آنها انجام شد. برای این کار موش‌ها ابتدا به‌وسیله ماده بیهوشی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ماده کمک بیهوشی گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به روش تزریق داخل صفاقی بیهوش گردیدند. پس از ضدعفونی پوست شکم و بازکردن پوست و عضلات شکم مجرای صفراوی مشترک را پیدا و دو گره به فاصله تقریبی یک سانتی‌متر با نخ جراحی سیلک به آن زده شد و سپس بین گره‌ها توسط قیچی جراحی قطع گردید (Bile duct ligation). بعد از عمل BDL، احشاء را داخل شکم قرار داده و ابتدا صفاق و عضله شکم با نخ بخیه قابل جذب و سپس پوست شکم را با نخ سیلک بخیه زده شد و محل بخیه‌ها توسط بتادین ضدعفونی گردید. بعد از گذشت سه روز از عمل BDL، علایم زردی، مانند ادرار قهوه‌ای رنگ، مدفوع کمرنگ و گوش‌های زرد رنگ در موش‌ها مشاهده گردید. بعد از ظاهر شدن علایم زردی و اطمینان از افزایش بیلیروبین در خون، درمان حیوانات با عصاره میوه زرشک (با دوزهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و داروی فنوباربیتال سدیم (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت تزریق داخل صفاقی و به مدت یک هفته انجام شد (حجم تزریقی به هر حیوان ۰/۵ میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. گروه کنترل، نرمال سالین با همان حجم دریافت نمود). بعد از اتمام درمان، ابتدا حیوانات با اتر بیهوش شده، سپس از هر حیوان، به‌وسیله سرنگ، میزان ۵ میلی‌لیتر خون مستقیماً از قلب آنها تهیه شد و در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور، جهت جداسازی سرم خون قرار داده و سانتریفیوژ گردید. پس از اتمام کار سرم نمونه‌ها جدا و به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری بیلیروبین خون (کل، مستقیم، غیرمستقیم) و آنزیم‌های کبدی (ALT، AST و ALP) توسط روش الایزا انتقال داده شد.

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری بر روی یافته‌های به‌دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ ابتدا داده‌ها به‌صورت میانگین±خطای معیار ارایه و سپس بین آنها آزمون آنالیز واریانس یک طرفه انجام و جهت تعیین اختلاف بین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد. معیار اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

شکل ۱ نشان‌دهنده مقایسه سطح بیلیروبین کل در بین گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده کلستاز باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی بیلیروبین کل در گروه‌های کلستاتیک نسبت‌به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با دوز ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی سطح سرمی بیلیروبین کل باعث کاهش معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک شدند (P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱، به‌ترتیب).

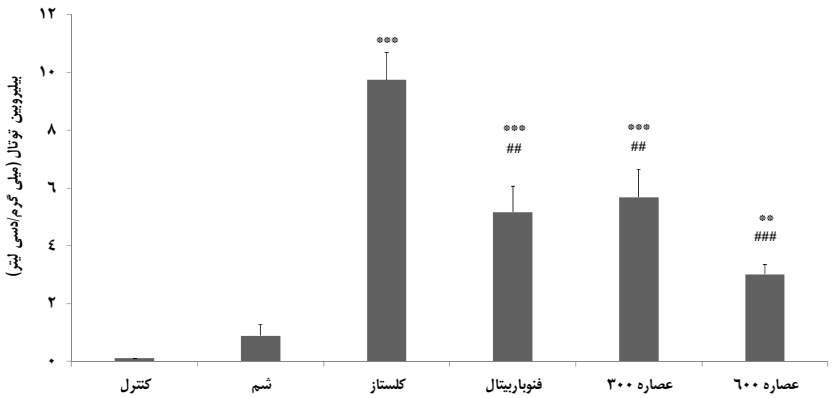
شکل ۲ نشان‌دهنده مقایسه سطح بیلیروبین مستقیم در بین گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده کلستاز باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی بیلیروبین مستقیم در گروه‌های کلستاتیک نسبت‌به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). گروه‌های کلستاتیک دریافت‌کننده عصاره با دوز ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی سطح سرمی بیلیروبین مستقیم باعث کاهش سطح سرمی بیلیروبین مستقیم شدند اما این کاهش از نظر آماری نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

شکل ۳ نشان‌دهنده مقایسه سطح بیلیروبین غیرمستقیم در بین گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده کلستاز باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی بیلیروبین غیرمستقیم در گروه‌های کلستاتیک نسبت‌به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). گروه کلستاتیک دریافت‌کننده عصاره با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی سطح سرمی بیلیروبین غیرمستقیم باعث کاهش معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک شد (P<۰/۰۱). گروه کلستاتیک دریافت‌کننده عصاره با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اینکه باعث کاهش سطح سرمی بیلیروبین غیرمستقیم نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک شد اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

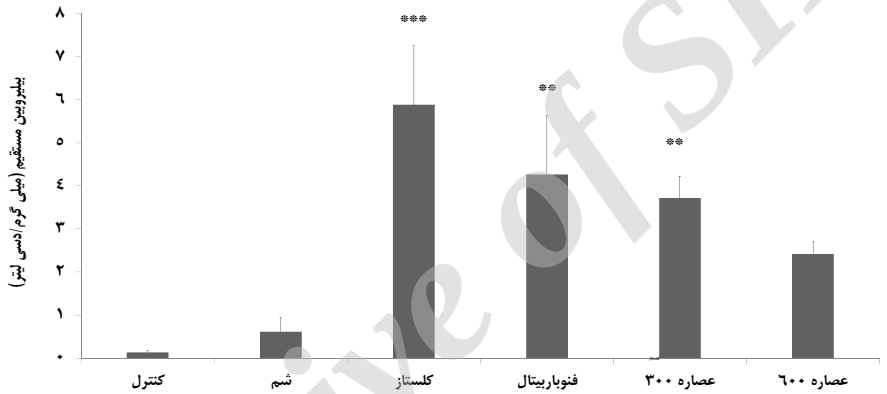
شکل ۴ نشان‌دهنده میزان سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در بین گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده کلستاز باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم ALT در گروه‌های کلستاتیک نسبت‌به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). گروه‌های کلستاتیک دریافت‌کننده عصاره با دوز ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی سطح سرمی آنزیم ALT باعث کاهش معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک شدند (P<۰/۰۰۱).

شکل ۵ نشان‌دهنده میزان سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (AST) در بین گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده کلستاز باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم AST در گروه‌های کلستاتیک نسبت‌به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). گروه‌های کلستاتیک دریافت‌کننده عصاره با دوز ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی سطح سرمی آنزیم AST باعث کاهش سطح سرمی آنزیم AST شدند اما این کاهش از نظر آماری نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

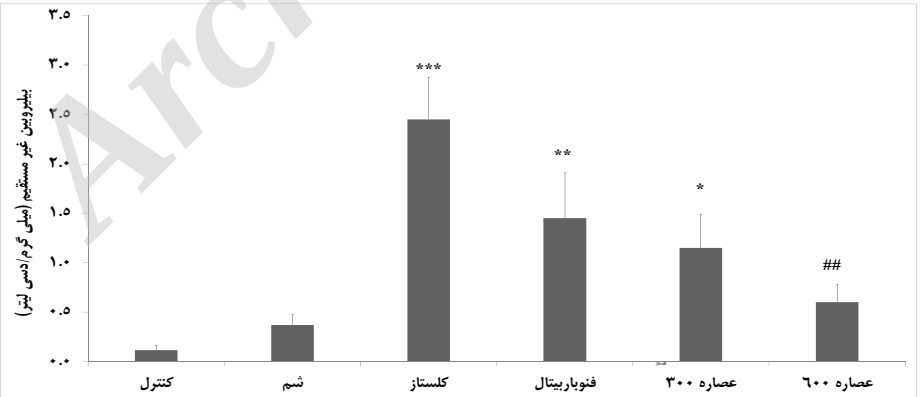
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه میزان سطح سرمی بیلیروبین کل در گروه‌های مختلف درمان شده با عصاره میوه زرشک (۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوطبه (n=۷) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کلستاز است (P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱،## P<۰/۰۱،### P<۰/۰۰۱).**

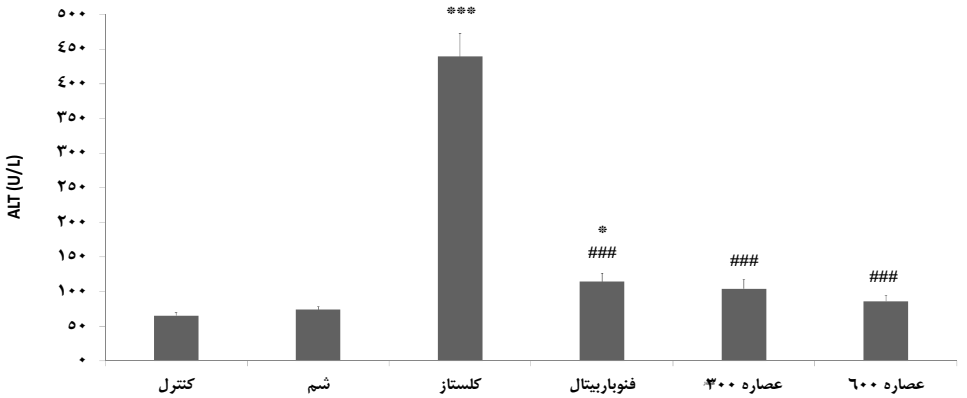


شکل ۲- مقایسه میزان سطح سرمی بیلیروبین مستقیم در گروه‌های کنترل، شم، کلستاز، کلستاز درمان شده با عصاره میوه زرشک (۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوطبه (n=۷) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کنترل است. (P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱).**

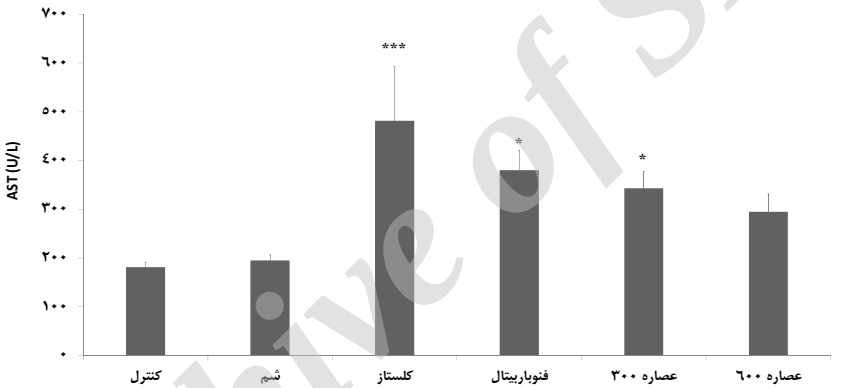


شکل ۳- مقایسه میزان سطح سرمی بیلیروبین غیرمستقیم در گروه‌های کنترل، شم، کلستاز، کلستاز درمان شده با عصاره میوه زرشک (۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوطبه (n=۷) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کلستاز است (*P<۰/۰۵،P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱،## P<۰/۰۱).**

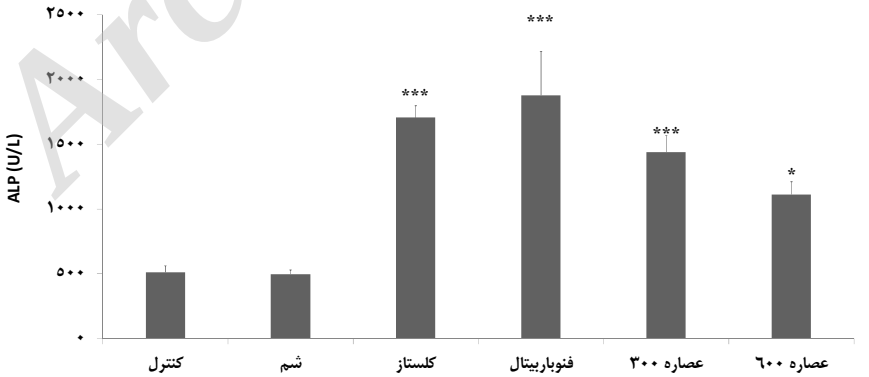
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ٤- مقایسه میزان سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در گروه‌های کنترل، شم، کلستاز، کلستاز درمان شده با عصاره میوه زرشک (٣٠٠ و ٦٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال (١٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوط به (n=٧) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کلستاز است (*P<٠/٠٥، ***P<٠/٠٠١، ###P<٠/٠٠١).



شکل ٥- مقایسه میزان سطح سرمی آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های کنترل، شم، کلستاز، کلستاز درمان شده با عصاره میوه زرشک (٣٠٠ و ٦٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال (١٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوطبه (n=٧) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کنترل است (*P<٠/٠٥، *** P<٠/٠٠١).



شکل ٦- مقایسه میزان سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه‌های کنترل، شم، کلستاز، کلستاز درمان شده با عصاره میوه زرشک (٣٠٠ و ٦٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال (١٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوطبه (n=٧) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت‌به گروه کنترل است (*P<٠/٠٥، *** P<٠/٠٠١).

Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۶ نشان‌دهنده میزان سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALP) در بین گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده کلستاز باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم ALP در گروه‌های کلستاتیک نسبت‌به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). گروه‌های کلستاتیک دریافت‌کننده عصاره با دوز ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی سطح سرمی آنزیم ALP باعث کاهش سطح سرمی آنزیم ALP شدند اما این کاهش از نظر آماری نسبت‌به گروه کنترل کلستاتیک معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

بحث

در این بررسی جهت پی بردن به آثار کاهش‌دهندگی بیلیروبین سرم خون ابتدا روش حیوانی بیماری کلستاز را با بستن مجرای صفراوی مشترک (Bile duct ligation) یا BDL در موش‌های صحرایی نر بالغ ایجاد شد. کلستاز شرایطی است که کبد در اثر بسته شدن مجاری خروجی صفرا دچار ناهنجاری‌های متعدد بافتی و سلولی از جمله التهاب بافت و مجاری صفراوی می‌گردد (۱۷). در این تحقیق به‌منظور ایجاد کلستاز در روش حیوانی، موش‌های صحرایی نر بالغ مورد بستن مجرای صفراوی مشترک (BDL) قرار گرفتند. پس از قطعیت عمل کلستاز و بالارفتن میزان بیلیروبین خون موش‌ها (زرد شدن رنگ گوش‌ها و کاهش رنگ مدفوع و غلیظ شدن رنگ ادرار)، از روز سوم کلستاز اقدام به درمان موش‌ها با عصاره میوه زرشک با مقادیر (۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گردید. در مطالعه حاضر میزان بیلیروبین‌های خون شامل بیلیروبین کل، بیلیروبین مستقیم و بیلیروبین غیرمستقیم در گروه‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد. همان‌طوری‌که در نمودار ۱ نشان داده شده است میزان بیلیروبین کل در موش‌های کلستاتیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. این افزایش نشان‌دهنده این واقعیت می‌باشد که بستن مجرای صفراوی مشترک موجب پس زدن صفرا و بالا رفتن بیلیروبین خون در موش‌ها شده است. این نتایج با نتایج مورد مطالعه پتروی و همکاران (۳) و ریورا و همکاران (۱۸) که کلستاز باعث افزایش بیلیروبین کل در حیوانات می‌شود مطابقت دارد. بیلیروبین مستقیم و غیرمستقیم نیز در حیوانات کلستاتیک افزایش معنی‌داری نسبت‌به گروه‌های کنترل و شم پیدا کرد. در تحقیقی نشان داده شد که افزایش بیلیروبین مستقیم در شرایط کلستاز رخ می‌دهد (۱۹). نتایج پژوهش فوق با نتایج به‌دست آمده توسط این تحقیق مطابقت دارد. آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز خون در حیوانات مورد آزمایش این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم‌های فوق‌الذکر در گروه کلستاز، نسبت‌به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت. در پژوهشی نشان دادند که شرایط کلستاز موجب افزایش آنزیم‌های کبدی (ALT، AST و ALP) می‌گردد (۲۰). این مطالعه با مطالعه صورت گرفته حاضر که نشان داد کلستاز موجب بالا رفتن مقادیر آنزیم‌های کبدی فوق‌الذکر می‌گردد مطابقت دارد. استفاده از عصاره میوه زرشک در دوزهای (۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی نر کلستاتیک توانست نسبت‌به گروه‌های کنترل و شم به‌طور معنی‌داری میزان بیلیروبین و آنزیم‌های افزایش یافته در موش‌های کلستاتیک تحت درمان را کاهش دهد. این نتایج با تحقیقات صورت گرفته قبلی که در آنها اثر محافظتی عصاره زرشک را بر روی کبد در روش سمیت ناشی از تتراکلرید کربن و همچنین در روش هایپرکلسترمیا گزارش نمودند مطابقت دارد (۲۱ و ۲۲). اثر ضد التهابی بربرین موجود در ریشه، برگ و میوه زرشک قبلاً گزارش گردیده است (۲۱). از جمله عوامل ایجادکننده التهاب ترشح هیستامین و پروستاگلاندین‌ها می‌باشد. نشان داده شده است که بربرین بر روی سلول‌های بافت‌های مختلف که هیستامین و هپارین تولید می‌کنند اثر گذاشته و با کاهش سنتز هیستامین سبب کاهش التهاب و کنترل آلرژی و شوک آنافیلاکسی می‌گردد. آسیب وارد شده به بافت کبد موجب بروز التهاب و بالارفتن آنزیم‌های کبدی مانند آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در خون می‌گردد (۲۲). در تحقیقاتی نشان داده شد که ترکیبات ضد سمی موجود در ریشه گیاه زرشک باعث کاهش آنزیم آلکالین فسفاتاز کبد موش صحرایی القاء شده با کلروفرم می‌شود (۱۳). این نتیجه با نتایج این پژوهش که عصاره میوه زرشک سبب کاهش آنزیم آلکالین فسفاتاز در خون موش‌های کلستاتیک گردید مطابقت دارد. بنابراین وجود التهاب در کبد موش‌های کلستاتیک می‌تواند مسبب افزایش آنزیمی در کبد باشد. وجود خاصیت ضد التهابی در زرشک می‌تواند در کاهش التهاب ایجاد شده مثمر ثمر باشد. گروه‌های کلستاتیک درمان شده با عصاره زرشک به‌طور معنی‌داری کاهش اختلالات آنزیمی را نشان دادند. استفاده از دوز بالاتر (۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عصاره زرشک کاهش بیشتری نسبت‌به گروه دریافت‌کننده دوز پایین‌تر (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در آنزیم‌های ALT، AST و ALP را نشان داد، هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. باید توجه نمود که استفاده از عصاره میوه زرشک با دوز (۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توانست به‌طور معنی‌داری در کاهش آنزیم ALP اثر نماید (شکل ۶). به نحوی که این اثر نسبت‌به گروه درمان شده با داروی فنوباربیتال معنی‌دار شدند (P<۰/۰۵). احتمال می‌رود که اثر عصاره با دوز بالای میوه زرشک نسبت‌به فنوباربیتال بهتر در فعالیت آنزیم UDPGT کبدی اثرگذار باشد. نشان داده شده است که بربرین، همچنین بر جریان‌های پتاسیم و کلسیم در هپاتوسیت‌های جدا شده از موش تأثیر بازدارنده دارد. این

Archive of SID
www.SID.ir

امر می‌تواند در التیام هپاتوسیت‌های آسیب دیده در کلستاز هم دیده شود (۲۳). احتمال دارد کاهش آنزیم‌های کبدی تولید شده در شرایط کلستاز به‌دلیل خاصیت گفته شده باشد که در این بررسی دیده شد.

داروی فنوباربیتال و کلوفیبرات برای درمان هیپربیلیرونمی در نوزادان و درمان کلستاز مزمن و صرع مداوم و تشنجات ناشی از تب کودکان استفاده می‌شود. علت استفاده این دارو در دو حالت فوق‌الذکر به این دلیل است که بالا رفتن بیلیروبین در خون باعث آسیب به مغز و سیستم عصبی مغز شده که این آسیب در تشنج و صرع به وقوع می‌پیوندد (۲۴). داروی فنوباربیتال باعث فعال شدن آنزیم کبدی یوریدین دی فسفو گلوکرونیک ترانسفراز شده که در نتیجه عمل آن بیلیروبین بیشتری را کونژوگه می‌کند و افزایش دفع بیلیروبین از راه ادرار را سبب می‌شود (۶). باتوجه به اینکه عصاره زرشک موجب کاهش معنی‌داری در هر سه نوع بیلیروبین در بدن می‌گردد، احتمال می‌رود که ترکیبات موجود در عصاره زرشک به‌خصوص بربرین توانسته باشد مشابه مکانیسم فنوباربیتال عمل نموده و آنزیم UDPGT کبدی را بیشتر فعال نماید.

نتیجه بررسی‌های حاضر بیانگر برتری گروه‌های کلستاز تحت درمان با عصاره میوه زرشک (۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت‌به گروه کلستاز درمان شده با داروی فنوباربیتال می‌باشد. بنابراین تحقیق حاضر ضمن تأیید نتایج محققین قبلی در مورد عصاره گیاه زرشک قادر است با استناد به روش کار و نتایج اخذ شده، تأکید می‌کند که مصرف این عصاره در موش موجب کاهش بیلیروبین‌های کل، مستقیم، غیرمستقیم و آنزیم‌های کبدی، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز خون می‌گردد. در مجموع بررسی حاضر نشان داد که عصاره میوه زرشک در درمان بیماری یرقان موش‌های صحرایی نر بالغ یا کلستاز شده و یا کاهش سطح بیلیروبین پلاسمای خون و آنزیم‌های کبدی نقش مؤثری دارد.

تشکر و قدردانی

از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی گروه‌های زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی سینا و دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان و مدیریت محترم آزمایشگاه بزرگمهر که ما را در انجام آن یاری نمودند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد. این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری خانم فرزانه توحیدی می‌باشد.

References

1. Blumenthal M. Herbal medicine: Expanded commission E monographs. Austin: Integrative Medicine Communications;2000. p. 419-23.
2. Lee M, Jang JJ, Kim YS, Lee SO, Choi SH, Kim SH, et al. Clinicopathologic features of q fever patients with acute hepatitis. Korean J Pathol 2012;46:10-4.
3. Petrov AI, Vatev NT, Atanasova MV. Cholestatic syndrome in viral hepatitis A. Folia Med (Plovdiv) 2012;54:30-5.
4. Katzung B, Masters S, Trevor A. Textbook of basic and clinical pharmacology. 12th ed. New York: McGraw-Hill Companies;2011. p.888-912.
5. Ganong WF. Review of medical physiology. 21th ed. New York: Mc Graw-Hill Companies;2012.p.506-7.
6. Zargari A. Medicinal plants. Tehran: Tehran University Publication; 2007.p.72-82.[Persian].
7. Verpoorte R. Exploration of nature's chemo diversity: The role of secondary metabolites as leads in drug development. Drug Discov Today 1998;3:232-8.
8. Abd El-Wahab AE, Ghareeb DA, Sarhan EE, Abu-Serie MM, El Demellawy MA. In vitro biological assessment of berberis vulgaris and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. BMC Complement Altern Med 2013;13:218.
9. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. Pharmacological and therapeutic effects of berberis vulgaris and its active constituent, berberine. Phytother Res 2008;22:999-1012.
10. Golzarand M, Ebrahimi-Mamaghani M, Arefhsseini SR, Ali Asgharzadeh A. Effect of processed berberis vulgaris in apple vinegar on blood pressure and inflammatory markers in type 2 diabetic patients. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders 2008;8:15-20.
11. Kermanshahi H, Riazi A. Effect of dietry dried berberis vulgaris fruit and enzyme on some blood parameters of lying hens fed wheat-soybean based diets. Int J Poultry Sci 2006;5:89-92.
12. Rashmi S, Rajasekaran S, Jagdish P. The genus berberis linn: A review. Pharmacognosy Reviews 2008;2:369-85.
13. Fallah Huseini H, Zareei Mahmoudabady A, Ziai SA, Mehrazma M, Alavian SM, Kianbakht S, et al. The effects of Taraxacum officinale L. and Berberis vulgaris L. root extracts on carbon tetrachloride induced liver toxicity in rats. Journal of Medicinal Plants 2010;9:78-84.
14. Timothy CB, Gregory SK. Berberine: Therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. Alt Med Rev 1997;2:94-103.
15. Hosseini A, Mirazi N. Acute administration of ginger (Zingiber officinale rhizomes) extract on timed intravenous pentylenetetrazol infusion seizure model in mice. Epilepsy Res 2014;108:411-9.
16. Minaiyan M, Ghannadi A, Mahzouni P, Jaffari-Shirazi E. Comparative study of berberis vulgaris fruit extract and berberine chloride effects on acetic acid-induced colitis in rats. Iran J Pharm Res 2011;10:97-104.
17. Duwaerts CC, Gehring S, Cheng CW, van Rooijen N, Gregory SH. Contrasting responses of kupffer cells and inflammatory mononuclear phagocytes to biliary obstruction in a mouse model of cholestatic liver injury. Liver Int 2013; 33:255-65.
18. Rivera-Huizar S, Rincón-Sánchez AR, Covarrubias-Pinedo A, Islas-Carbajal MC, Gabriel-Ortíz G, Pedraza-Chaverrí J, et al. Renal dysfunction as a consequence of acute liver damage by bile duct ligation in cirrhotic rats. Exp Toxicol Pathol 2006;58:185-95.
19. Muchova L, Vanova K, Zelenka J, Lenicek M, Petr T, Vejrazka M, et al. Bile acids decrease intracellular bilirubin levels in the cholestatic liver: Implications for bile acid-mediated oxidative stress. J Cell Mol Med 2011;15:1156-65.
20. Oswari H, Widjaja RK, Rohsiswatmo R, Cleghorn G. Prognostic value of biochemical liver parameters in neonatal sepsis-associated cholestasis. J Paediatr Child Health 2013;49:6-11.
21. Hermenean A, Popescu C, Ardelean A, Stan M, Hadaruga N, Mihali C-V, et al. Hepatoprotective effects of berberis vulgaris L. extract/β cyclodextrin on carbon tetrachloride-induced acute toxicity in mice. Int J Mol Sci 2012;13:9014-34.

Archive of SID
www.SID.ir

22. Taheri S, Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Rezaei A, Zaheiri S. Evaluation of the effects of hydroalcoholic extract of berberis vulgaris root on the activity of liver enzymes in male hypercholesterolemia rats. Avicenna J Phytomed 2012; 2:153-61.

23. Yesilada E, Kupeli E. Berberis crataegina DC. Root exhibits potent anti-inflammatory, analgesic and febrifuge effects in mice and rats. J Ethnopharmacol 2002;79:237-48.

24. Krawczyk M, Grünhage F, Langhirt M, Bohle RM, Lammert F. Prolonged cholestasis triggered by hepatitis A virus infection and variants of the hepatocanalicular phospholipid and bile salt transporters. Ann Hepatol 2012;11:710-4.

25. Tosh D, Shen CN, Slack JM. Differentiated properties of hepatocytes induced from pancreatic cells. Hepatology 2002; 36:534-43.

26. Gholitabar M, McGuire H, Rennie J, Manning D, Lai R. Clofibrate in combination with phototherapy for unconjugated neonatal hyperbilirubinaemia. Cochrane Database Syst Rev 2012;12;12:CD009017.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Knowledge & Health 2015; Vol 10, No 3
Shahroud University of Medical Sciences

DOI: 10.22100/jkh.v10i3.783

Original Article

Effect of Berberis Vulgaris Hydroethanolic Extract on Serum Bilirubin Levels and Liver Enzymes in Male Cholestatic Rats

Naser Mirazi (Ph.D.)[1*], Farzaneh Tohidi (M.Sc.)[2], Abdolkarim Hosseini (M.Sc.)[3]

1- Dept. of biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2- Dept. of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan branch, Hamedan, Iran.
3- Dept. of Physiology, School of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Received: 11 December 2014**, Accepted:** 17 January 2015

Abstract:

Introduction: *Liver disorders are often associated with elevated bilirubin and liver enzymes in blood plasma. In this study the hypobilirubinemic and liver enzymes reducing effects of Berberis vulgaris hydroethanolic extract was investigated.*
Methods: *In this experimental study 42 male rats divided randomly in 6 groups: control, sham, cholestatic, cholestatic treated with B. vulgaris extract (300 and 600 mg/kg, i.p, daily for one week) and cholestatic treated with phenobarbital (15 mg/kg, i.p, daily for one week). Cholestasis was induced by ligation of common bile duct using two ligatures and transection the bile duct. After 3 days, the cholestasis animal showed with hyperbilirubinemia. At the end of experiment, animals' blood samples were collected by cardiac puncture and total serum bilirubin level, direct bilirubin, indirect bilirubin and liver enzymes (ALT, AST and ALP) were analyzed. A $P<0.05$ was considered significant.*
Results: *Data showed that B. vulgaris extract has hypobilirubinemic effects on cholestatic animals treated for one week. Also B. vulgaris decreased liver enzymes in cholestatic rats compared with control and phenobarbital groups ($P<0.01$).*
Conclusion: *The hypobilirubinemic B. vulgaris extract effects might be due to its compositions such as berberine which could have effects on liver to decrease blood bilirubin or increase bilirubin renal excretion.*

Keywords: Berberis vulgaris, Bilirubin, Cholestasis, Liver enzymes, Rat.

Conflict of Interest: No
***Corresponding author:** N. Mirazi**, Email:** mirazi@basu.ac.ir*

Citation: Mirazi N, Tohidi F, Hosseini A. Effects of berberis vulgaris hydroethanolic extract on serum bilirubin level and liver enzymes in male cholestatic rats. Journal of Knowledge & Health 2015;10(3):59-67.

Archive of SID

www.SID.ir