

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، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

۲-دانشیار، گروه بیولوژی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران. mehrdadshariati@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه مصرف الکل سبب ایجاد بیماری‌ها و ناهنجاری‌های مختلف به خصوص اختلالات کبدی می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر میوه زرشک زرافشان (*Berberis integerrima*) بر سطح سرمی آنزیم‌های کبدی (ALP, AST, ALT, GGT)، میزان آلبومین و پروتئین تام و تغییرات بافت کبد به دنبال مصرف اتانول می‌باشد. 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 ۱۶۰ تا ۲۲۰ گرم به صورت تصادفی در ۵ گروه (۱۰ نایی: ۱) گروه کنترل، ۲) گروه شاهد مثبت (دریافت کننده الکل ۲۰٪)، ۳) گروه شاهد منفی (دریافت کننده دوز ۲۰۰ mg/kg زرشک) گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب (۲۱ روز اول الکل ۲۰٪ و ۲۸ روز دوم دوز ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ زرشک زرافشان) تقسیم گردیدند. پس از خون‌گیری و جداسازی سرم، میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی (AST, ALT, ALP, GGT) و آلبومین و پروتئین تام درون سرم سنجش و به منظور مطالعات هیستوپاتولوژی کبد، مقاطع بافتی تهیه شد.

یافته‌ها: نتایج تغییرات یکسان وزن بدن و کبد را در گروه‌های دریافت کننده اتانول و زرشک نسبت به گروه‌های شاهد و کنترل نشان داد. میزان تغییرات آنزیم‌های AST, ALP, ALT, GGT، پروتئین تام و آلبومین در گروه‌های تجربی دریافت کننده زرشک نسبت به گروه تیمار شده با اتانول در سطح $p < 0/05$ معنی دار بود. مطالعات بافتی نشان داد، که در گروه تیمار شده با اتانول مناطق وسیع خالی از سلول‌های هپاتوسیت وجود دارد و روند بهبودی در گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره میوه مشاهده گردید. نتیجه گیری: مصرف عصاره میوه زرشک زرافشان در دوز ۲۰۰ به علت داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید بیشتر، باعث محافظت سلول‌های کبدی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول می‌شود.

واژه‌های کلیدی: زرشک زرافشان، اتانول، کبد، موش صحرایی.

مقدمه

است. الکل به طور طبیعی (۸۰٪) بعد از مصرف، توسط سه سیستم الکل دهیدروژناز، سیتوکروم P450 و کاتالاز در کبد متابولیزه می‌گردد. طی متابولیسم الکل در کبد و فعال سازی میکروزوم‌های کبدی، ترکیبات متابولیکی توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 (ایزوفرم - CYP2E1) تولید می‌شود که این مواد می‌توانند موجب آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد شوند (۳۹). مصرف الکل ظرفیت سیتوکروم P450 در کبد را تا ۱۰ برابر افزایش می‌دهد در نتیجه محصولات اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از آن افزایش می‌یابد (۱۲). مطالعات چند سال اخیر نشان داده است که مصرف الکل می‌تواند از طریق تشکیل

مصرف الکل امروزه به عنوان یک معضل اجتماعی است که هم سبب تحمیل هزینه‌های هنگفت پزشکی و هم سبب ایجاد بیماری‌ها و ناهنجاری‌های مختلف در بدن انسان به خصوص اختلالات کبدی و اثرات کوتاه مدت مصرف اتانول باعث کاهش فعالیت سیستم عصبی مرکزی می‌شود. کبد، اندام حیاتی برای تجزیه، سم زدایی و دفع مواد زائد و مضر از بدن می‌باشد. بیماری کبد الکلی اصطلاحی است که در برگرفته علائم مصرف بیش از حد الکل در کبد، از جمله کبد چرب، هپاتیت الکلی، هپاتیت مزمن با فیروز کبدی و یا سیروز

و گاماگلوتامیل 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 سلول ها توانایی استفاده از اکسیژن موجود را به اندازه کافی ندارند و شرایط هیپوکسی به وجود می آید و باعث نکرروز 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 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 صنعتی 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 دانه های روغنی می باشد که موجب جلوگیری از آسیب های 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 آسیب های ناشی از سموم کبدی و رادیکال های آزاد دارند (۱۰). گیاه زرشک زرافشان از راسته آلانگان، 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

رادیکال های 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 بیوترانسفورمسیون مشتقات رادیکال- های آزاد، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ سلولی حاد (نکرروز) 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 رادیکال های 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 رادیکال ها می توانند با آلکیل 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 می گردد. نکرروز کبدی منجر به افزایش سطح سرمی آنزیم های شاخص کبد در خون می گردد. افزایش سطح آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)

زرشک زرافشان با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی از بیماری های مزمن ناشی از رادیکال های آزاد مثل سرطان پیشگیری می کند (۲۷). در مطالعات مشخص شده است میوه زرشک اثر حفاظتی خود را در برابر آسیب اکسیداتیو القاشده توسط تراکلریدکربن در موش های صحرایی از طریق تعدیل آنزیم های سم زدایی 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 ۱۶۰ تا ۲۲۰ گرم، سن ۳-۵ ماه، مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات در دمای 23 ± 2 درجه 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

اکسی اکانتین، برامین یا مالتین، ژاتروریزین، کلومبامین و غیره دارای خواص دارویی بسیاری باشد (۲۲، ۴). هم چنین خواص ضد سرطانی، فعالیت ضد باکتریایی، اثر حفاظتی بر روی کبد نیز دیگر خواص زرشک است (۳۰، ۲۴، ۴). 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 را کاهش 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 اکسی اکانتین 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، پتونییدین و پتونییدین وجود دارد. کبد نقش مهمی در حفظ 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، کریسانتین، هایپروزید و پلارگونین است (۱۶، ۳). هم چنین دارای ترکیباتی نظیر آسکوربیک اسید، آلفاتوکوفرول و بتاکاروتن که همگی جزء آنتی اکسیدان ها به شمار می روند، هستند (۳۹). فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک در گیاهان دارویی دارای اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله خواص آنتی اکسیدانی، جمع آوری رادیکال های آزاد و اثرات ضد التهابی و ضد سرطانی 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).

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 بافی 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 همتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند، پس از آن جهت بررسی سلولی و بافتی با میکروسکوپ نوری دوربین دار Nikon ساخت ژاپن ارزیابی گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری

داده های حاصل از نتایج به دست آمده به صورت میانگین \pm 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 $p < 0.05$ در نظر گرفته شد).

نتایج

به منظور بررسی تاثیر میوه زرشک زرافشان بر فعالیت فاکتورهای اختصاصی بیوشیمیایی سرم حیوانات مورد آزمایش، فعالیت چهار آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)، میزان پروتئین تام و آلومین، مورد ارزیابی قرار گرفت. همان طور که نتایج حاصله در جدول (۲ و ۱) نشان می دهد، مصرف الکل به مدت ۲۱ روز پی در پی میزان فعالیت این دسته از آنزیم ها به طور معنی داری ($p < 0.05$) افزایش و میزان پروتئین تام و آلومین را کاهش می دهند. تغییرات وزن کبد و وزن بدن در ($p < 0.05$) معنی دار نبودند. در حالی که در

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 کیلو گرم به ازای هر سر موش دریافت کردند (۱۳).

تهیه عصاره

دراواخر تابستان میوه های زرشک زرافشان از اطراف شهر بوانات استان فارس جمع آوری و پس از شستشو در سایه خشک شدند. ۱۰۰۰ گرم پودر زرشک در ۵۰۰ سی سی اتانول ۹۵٪ به مدت ۷۲ ساعت غوطه ور 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 صحرائی 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 الکل زرشک زرافشان بادوز- های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای وزن بدن موش های صحرائی 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 ۳-۴ میلی لیتر خون در لوله آزمایش استریل فاقد ماده ضد انعقاد جمع آوری و پس از قرار دادن آن 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 ALT، ALP، AST، GGT، پروتئین تام آلومین بر اساس روش های استاندارد با استفاده از کیت های آنزیمی و بیوشیمیایی (شرکت پارس آزمون، ساخت ایران) توسط

استفاده قرار می گیرد. آنزیم های ALT،AST،ALP و GGT علامت های سلامت کبد و عملکرد طبیعی کبد می باشند. افزایش میزان فعالیت آنزیم های ALT و AST می تواند تأیید کننده افزایش نفوذ پذیری سلول یا نکرروز 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 آلومین 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 تأیید کننده آسیب جدی بافتی باشد. در طی متابولیسم الکل در کبد به علت فعالیت سیستم سیتوکروم P₄₅₀ رادیکال های آزاد تولید می شوند، که وجود این رادیکال ها می تواند سیستم تدافعی آنتی اکسیدان سلول را تحت الشعاع قرار دهد(۳۱،۲۶). نتایج مصرف مزمن الکل ترشح سایتوکاین التهابی (TNF α ، اینترلوکین ۶ [IL6] و اینترلوکین ۸ [IL8])، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و سمیت استالدهید است. این عوامل باعث التهاب، آپوپتوز و در نهایت سلول های کبدی دچار فیروز 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 سال های 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 می توانند 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 برسانند. ترکیبات فنلی به علت این که

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 آلومین افزایش کاملاً معنی داری نشان داد(۰/۰۵ p).

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 نکرروز می باشند. در گروه شاهد مثبت (۲۱ روز الکل) نکرروز وسیع همراه با التهاب مشاهده شد (شکل B-۱). در گروه شاهد منفی (۲۸ روز مصرف زرشک) نظم سلولی و حفظ حالت شعاعی و طبیعی بودن سلول کبدی مشاهده گردید (شکل C-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 (شکل D-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 (شکل E-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 استفاده این بیماری ها دارای عوارض جانبی هستند(۲۳). کبد نقش محوری در تغذیه و متابولیسم ویتامین ها، ساخت پروتئین های حیاتی مثل آلومین، فاکتورهای انعقادی و آپروپروتئین ها(۱۸) به کمک آنزیم ها را دارد. تغییر در میزان این آنزیم ها جهت ارزیابی عملکرد کبد مورد

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 زرشک 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 تأیید 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 لیپدی 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 تقریباً طبیعی نگه دارد (۲۷، ۱۹، ۱).

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 مهم ترین 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 آنتی اکسیدانی و زدایش رادیکال های آزاد زرشک با گزارش سایر محققین هم خوانی دارد، از جمله احمد مجد و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثرات آنتی اکسیدانی زرشک زرافشانی را تأیید کردند (۲۷). هم چنین هاناچ در سال ۲۰۰۶ گزارش نمود که 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 موجود در عصاره مانند ترکیبات بتاکاروتن، ویتامین C، هیدروکسی تولوئن بوتیل، ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها بستگی دارد (۲۰). بنابر

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

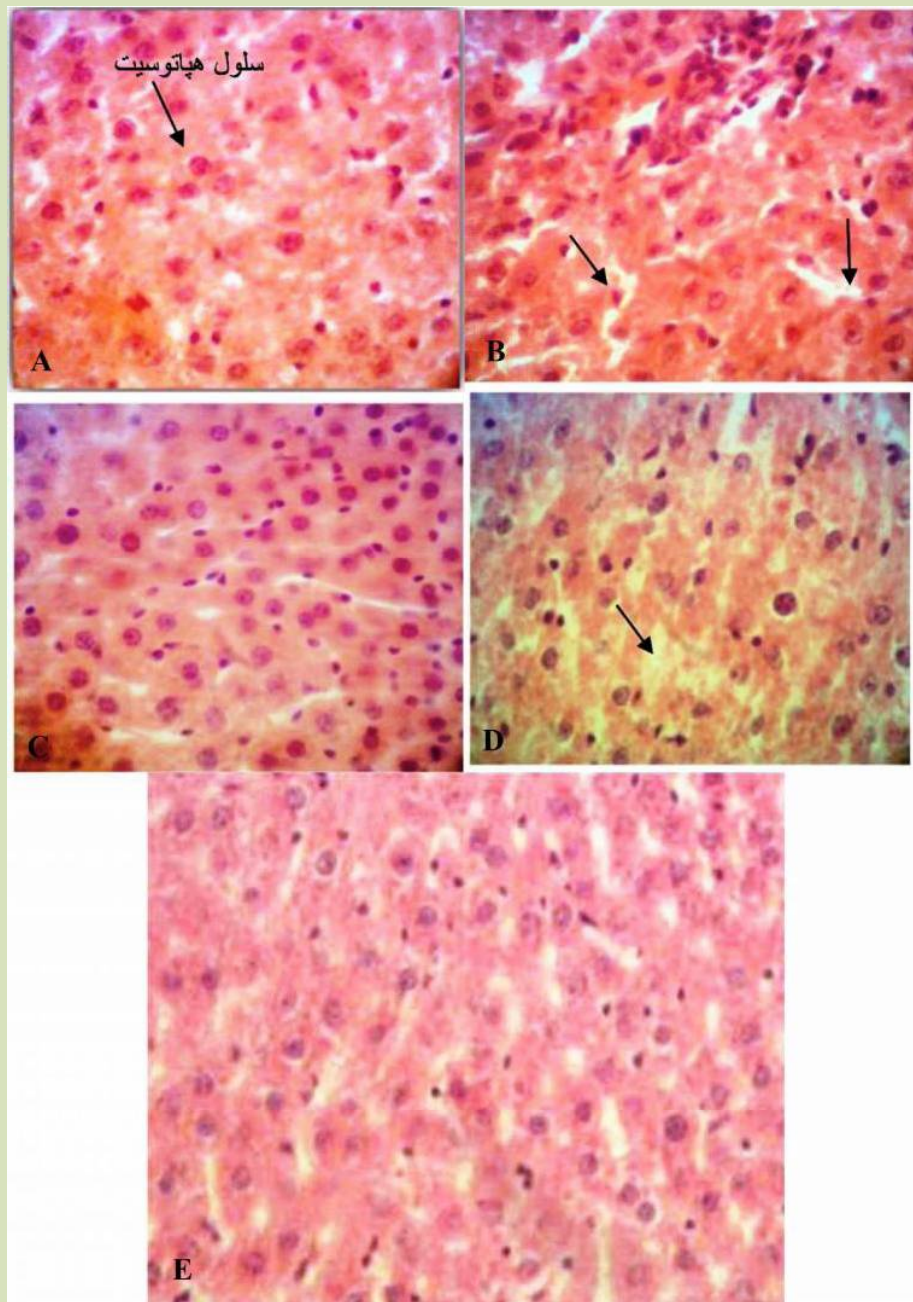
| وزن (گرم) | کنترل | شاهد مثبت | شاهد منفی | تجربی ۱ | تجربی ۲ |
|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| کبد | ۷/۴۸±۰/۱۶ | ۷/۵۰±۰/۲۳ | ۷/۹۵±۰/۳۰ | ۷/۵۵±۰/۲۳ | ۷/۷۹±۰/۲۰ |
| | ۲۰۵±۴/۹۳ | ۲۱۲±۰/۵۹ | ۱۸۸/۵±۲/۹۸ | ۲۱۵±۶/۳۷ | ۲۱۶±۵/۳۷ |

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±۱/۸۸ ^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) | ۲۳۰±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 می باشند (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: دژنراسانس 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 با H&E (بزرگنمایی ۴۰۰X).

رسیده و انجام شده است. بدین وسیله نویسنده مراتب سپاس را از تمام کسانی که در این پژوهش ما را یاری نموده اند، دارد.

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

منابع

- 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 صحرائی بالغ. فصل نامه ناباروری و باروری. جلد ۱۲. شماره ۲. ص ۱۰۹-۱۱۵.
- ۳- ضرغامی مقدم، م. ۱۳۹۰. اکوفیزیولوژی زرشک. محیط زیست ایران. دوره ۲۴. شماره ۳. ص ۵۱-۵۵.
- ۴- ملک پور، الف. ۱۳۶۲. اصول بیوشیمیایی 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 berberis story: *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. Chattopadhyay, 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., ZarinGhalem, 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]
14. Fatehi-Hassanabad, Z., Jafarzadeh, M., Tarhini, A., Andfatehi, M. (2005). The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract 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 neurodegenerative 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, J.E., Editor. Guyton and hall textbook of medical physiology. 12th ed. New York: 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 determine 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 CCl₄ induce hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia*, 73; 557-64.
24. Jamshidzadeh, A., Niknahad, H. (2006). Hepatoprotective activity of *Berberis integerrima* 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.

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. Muruges, KS. (2005). Hepato 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. *Biochimica et 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.

