تأثیرات پیشگیرانه پودر زردچوبه خوراکی از ابتلا به کبد چرب در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب

رامین کفاشی‌الهی*

چکیده

هدف از مطالعه حاضر ارزیابی مصرف خوراکی پودر زردچوبه در پیشگیری از کبد چرب ناشی از رژیم غذایی پرچرب در مدل موش صحرایی می‌باشد. بدین منظور، موش‌های صحرایی نر ویستار در گروه‌های آزمایشی متفاوت، شامل ۱-گروه شاهد سالم تغذیه با جیره استاندارد ۲-گروه تغذیه با جیره پر چرب ۳- گروه تغذیه با جیره پر چرب + کلوفیبرات ۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (به عنوان کنترل مثبت) ٤ -گروه تغذیه با جیره پر چرب + پودر زردچوبه (۵٪) به مدت ٦ هفته تیمار شدند. در پایان موش‌ها از لحاظ تغییرات پروفایل لیپیدی سرم، بیومارکرهای سرمی، آسیب بافت کبد و تغییرات هیستوپاتولوژیک آن مورد مقایسه قرار گرفتند. پس از ٦ هفته تیمار، جیره پرچرب به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) باعث افزایش تری‌گلیسرید و کلسترول سرم شد. در موش‌های گروه تغذیه با جیره پر چرب نیز سطوح سرمی آنزیم‌های شاخص آسیب کبد و بیلی‌روبین تام سرم در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) افزایش و میزان پروتئین تام و آلبومین سرم به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) کاهش یافت. تیمار با پودر زردچوبه به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) مارکرهای آسیب بافت کبد و بیلی‌روبین تام را کاهش داد و مقادیر پروتئین تام و آلبومین سرم را به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) افزایش داد. همچنین لیپیدهای بیش از حد افزایش یافته سرم به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) کاهش پیدا کرد. آسیب‌شناسی بافتی کبد تغییرات ایجاد شده توسط جیره پرچرب و اثرات محافظت از کبدی پودر زردچوبه را مورد تائید قرار داد. نتایج بدست آمده نشان داد که پودر زردچوبه دارای اثرات پیشگیری کننده از بروز کبد چرب در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پرچرب می‌باشد.

واژگان کلیدی: *جیره غذایی پرچرب، زردچوبه، کبد چرب*

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱٦

مقدمه

تحقیقات نشان داده است که تغذیه با جیره پرچرب منجر به استئاتوزیس کبدی می‌گردد (۵). تری‌گلیسرید و کلسترول، لیپیدهای بیولوژیک مهمی هستند که دریافت بیش از حد آنها از طریق جیره غذایی منجر به هیپرتری‌گلیسریدمی (۲۲و ۲۰) و هیپرکلسترولمی (٤۳) می‌گردد. کبد چرب غیرالکلی با تجمع تری‌گلیسریدها در سلول‌های کبدی که در اثر استریفیکاسیون اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول شکل می‌گیرند، مشخص می‌شود. افزایش اسیدهای چرب آزاد در کبد از سه منبع جداگانه یعنی لیپولیز (هیدرولیز اسید چرب و گلیسرول از تری‌گلیسیرید) در بافت چربی، رژیم غذایی پر چرب و لیپوژنز مجدد (بیوسنتز اسیدهای چرب) سرچشمه می‌گیرد (۳۳). در مقابل، اسیدهای چرب ممکن است از طریق بتا اکسیداسیون، استریفیکاسیون مجدد به تری‌گلیسریدها و ذخیره به شکل قطرات چربی، یا دفع به صورت VLDL (Very Low Density Lipoprotein) مصرف شوند. بنابراین، تجمع چربی در کبد می‌تواند در اثر افزایش سنتز چربی، کاهش حذف چربی و یا کاهش اکسیداسیون آن به وقوع بپیوندد. دانلی (Donnelly) و همکارانش در سال ۲۰۰۵ نشان داده‌اند که ٦۰٪ محتوای تری‌گلیسرید کبد از اینفلاکس اسیدهای چرب از بافت چربی، ۲٦٪ از لیپوژنز مجدد، و ۱۵٪ از جیره غذایی منشا می‌گیرد (۱۸). کبد چرب غیر الکلی با یکسری تغییرات هیستوپاتولوژیک که از استئاتوز تا سیروز متفاوت است، همراه می‌باشد (۱۹و ۱۷، ۱۱، ۳). سابقاً عقیده بر این بود که استئاتوز پدیده‌ای ساده بوده و بدون عوارض می‌باشد. ولی، امروزه مشخص شده است که کبد چرب به عواملی همچون استرس‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیر بوده و می‌تواند به استئاتوهپاتیت که با نکروز، آماس، فیبروز و سیروز مشخص می‌شود، منجر گردد (۳۱و ۲۱). در پاتوژنز استئاتوهپاتیت غیر الکلی فرض بر این است که تجمع تری‌گلیسرید در کبد یا استئاتوز باعث افزایش حساسیت کبد به آسیب‌های ناشی از سیتوکین‌ها یا لیپوکین‌های آماسی، اختلالات

۱*گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.
raminazad56@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

عملکردی میتوکندری‌ها و استرس اکسیداتیو خواهد شد که خود به استئاتوهپاتیت و یا فیبروز منجر می‌شود (۱۳و ۱۲). Barbuio و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو در تبدیل استئاتوز به استئاتوهپاتیت موثر می‌باشد (٦). به هرحال، اگرچه استئاتوز ممکن است به نارسایی کامل کبد منجر شود، لکن درمان مناسب و ایده‌آلی برای آن وجود ندارد(۳). از سوی دیگر، اغلب بیماران قادر به تحمل اثرات جانبی داروهای شیمیایی نیستند. لکن، مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی که شاخه‌ای از فارماکوتراپی مدرن بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند، اثرات جانبی بسیار اندکی بر روی بیماران به جای می‌گذارند. بسیاری از خواص درمانی زردچوبه از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی (۳۷)، اثرات ضد التهابی (۱٦و۷، ۱)، اثرات ضد سرطانی و ضد میکروبی (۳٤و ۲۷)، اثرات محافظت از کبد (۲٤)، اثرات محافظت از کلیه (۲) اثرات ممانعت از تشکیل ترومبوز (۳۸)، اثرات محافظتی در انفارکتوس قلبی (٤۲و ۳۰)، اثرات هیپوگلیسمیک (٤۰و ۳۹، ٤)، اثرات ضد تورم مفاصل در بیماری آرتریت روماتوئید (۱٤)، توسط تحقیقات مدرن و پیشرفته مورد تائید قرار گرفته است.

با توجه به مجموعه فوق‌الذکر به‌خصوص اثرات آنتی‌اکسیدانی پودر زردچوبه، احتمالاً این گیاه توانایی آن را خواهد داشت که کبد را از ابتلاء به استئاتوز محافظت کند. در هر صورت با توجه به بررسی منابع، مطالعه‌ای در رابطه با اثرات محافظتی زردچوبه از ابتلاء به استئاتوز کبد در موارد تغذیه با جیره پر چرب وجود ندارد. بنابراین، تحقیق حاضر جهت ارزیابی اثرات محافظتی پودر زردچوبه از استئاتوز کبد در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پر چرب اجرا گردیده است. به هر حال، با انجام این مطالعه خاصیت دارویی زردچوبه در محافظت از استئاتوز کبد در مواقع تغذیه با جیره پر چرب برای اولین بار مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که در صورت تائید می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس با خاصیت هیپولیپیدمیک و آنتی‌اکسیدانی جهت محافظت در برابر استئاتوز و عوارض وخیم ناشی از آن مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی می‌باشد. برای انجام این مطالعه، از تعداد ٤۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰ ± ۲۰۰ گرم، استفاده شد. جیره غذایی و آب نیز به‌طور آزاد در دسترس قرار گرفته و شرایط نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد بود. پس از یک هفته عادت به شرایط جدید، آزمایش شروع شد.

برای تهیه پودر زردچوبه، ساقه‌های زیرزمینی تازه زردچوبه خریداری و پس از تائید آن توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، به‌طور کامل توسط آب تمیز شسته شده و پس از خشک نمودن توسط آسیاب به‌شکل پودر درآمد. پودر حاصله در تمام مدت آزمایش در دمای اتاق نگهداری شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ٤ گروه مساوی شامل گروه اول شاهد سالم، گروه دوم تغذیه با جیره پر چرب، گروه سوم تغذیه با جیره پر چرب + داروی کلوفیبرات (به عنوان کنترل مثبت)، گروه چهارم تغذیه با جیره پر چرب + پودر زردچوبه تقسیم شدند. برای ایجاد استئاتوزیس کبدی، از امولسیون پرچرب براساس جدول ۱ طبق روش ارائه شده توسط Zou و همکاران در سال ۲۰۰٦ استفاده شد (٤۵). موش‌های گروه‌های ۲ تا ٤، امولسیون پرچرب را به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، روزانه راس ساعت ۸ صبح به مدت ٦ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. به موش‌های گروه شاهد نیز به همان میزان (۱۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) سالین نرمال گاواژ شد. همزمان به رژیم غذایی موش‌های گروه ٤ پودر زردچوبه به میزان ۵٪ افزوده و به طور کامل مخلوط گردید. مطالعات نشان داده است که مصرف پودر زردچوبه به‌میزان ۵٪ به مدت ۹۰ روز در جیره غذایی موش‌های صحرایی هیچ‌گونه مرگ و یا آسیب پاتولوژیک کبدی، کلیوی، ریوی، گوارشی، مغزی و طحال را سبب نشده است (۱۵). گروه کنترل مثبت نیز، کلوفیبرات را به میزان به میزان ۳۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در

Archive of SID

www.SID.ir

روز از طریق گاواژ به صورت سوسپانسیون در متیل سلولز ۰/۵٪ (۲ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) دریافت کرد (۳۶). به موش‌های گروه شاهد نیز به همان میزان (۲ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) متیل سلولز ۵٪ گاواژ شد. در پایان دوره آزمایش جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) (۳۵)، آلکالین فسفاتاز (ALP) (۲۳)، آلبومین (Alb)و پروتئین تام (TP) (۲۸) و بیلی‌روبین تام (TB) (۲۹)، نمونه خون ناشتا از سینوس پشت کره چشم تهیه گردید. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد. جهت سنجش پارامترهای مذکور از کیت‌های تجاری موجود (Beijing, China, 2012) استفاده شد. سطوح سرمی تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، کلسترول LDL (LDL-C) و کلسترول HDL (HDL-C) نیز به روش آنزیماتیک با کیت‌های تجاری (Nanjing, China) اندازه‌گیری گردید. همچنین میزان کلسترول VLDL (VLDL-C) با تفریق مقدار LDL-C و HDL-C از کلسترول تام محاسبه شد.

جدول ۱ـ ترکیب امولسیون پر چرب جهت گاواژ به موش‌های صحرایی

ترکیب	مقدار مصرف
روغن ذرت	٤۰۰ گرم
ساکاروز	۱۵۰ گرم
پودر کامل شیر	۸۰ گرم
کلسترول	۱۰۰ گرم
سدیم دی‌اکسی‌کولات	۱۰ گرم
توئین ۸۰	۳٦/٤ گرم
پروپیلن گلیکول	۳۱/۱ گرم
مولتی ویتامین	۲/۵ گرم
نمک	۱۰ گرم
مواد معدنی مخلوط	۱/۵ گرم
آب مقطر	۳۰۰ میلی‌لیتر

هم‌زمان همه موش‌ها با ایجاد دررفتگی در مهره‌های گردن (Cervical dislocation) با ترحم کشته شدند. از کبد تمامی موش‌ها نمونه‌های بافتی اخذ و در فرمالین بافری ۱۰ درصد پایدار شدند. از نمونه‌های فوق با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع هیستوپاتولوژی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون و با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین تهیه شد (۲٦) تهیه شد. تغییرات هیستوپاتولوژی کبد به صورت تغییر چربی هپاتوسیت‌ها بر اساس شدت ضایعه طبق روش ارائه شده توسط Wang و همکاران در سال ۱۹۹۹ و Brunt و همکاران در سال ۲۰۰۹ (٤٤و ۸)، از صفر تا ٤ (صفر: بدون استئاتوز، ۱: کمتر از ۲۵٪ هپاتوسیت‌ها دچار استئاتوز هستند، ۲: بیش از ۲۵٪ تا ۵۰٪ هپاتوسیت‌ها دچار استئاتوز هستند، ۳: بیش از 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 Nikon (ECLIPSE E200، ساخت کشور ژاپن) انجام شد.

تحلیل آماری داده‌ها

برای تحلیل داده‌ها از بسته نرم‌افزاری SPSS-13 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 آنالیز درجات هیستوپاتولوژیک استئاتوز کبد مورد استفاده قرار گرفت. اختلافات در سطح $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شدند. از آزمون آماری کلموگروف ـ اسمیرنف (Kolmogrov-Smirnov) نیز برای تعیین نرمال بودن توزیع پراکندگی داده‌ها استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

الف- تاثیر پودر زردچوبه بر تغییر پارامترهای بیوشیمیایی آسیب کبد ناشی از تغذیه با رژیم پرچرب

نتایج تاثیر پودر زردچوبه 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، کلوفیبرات (۳۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) 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 حدّ 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 + پودر زردچوبه مقادیر افزایش یافته آنزیم‌های مارکر و بیلی‌روبین تام سرم در اثر رژیم پرچرب به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش و مقادیر کاهش یافته پروتئین تام و آلبومین سرم را به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت، هرچند که این مقادیر به حد طبیعی خود نرسیدند.

جدول ۲- تاثیر پودر زرد چوبه بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم موش‌های صحرایی در استئاتوز کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب

گروه‌ها	پارامترها					
	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	۴۹/۵۱±۲/۳۱ bd	۶۴/۷۲±۱/۵۵ bd	۱۸۷/۷۲±۹/۰۳ bd	۰/۸۳±۰/۰۴ bd	۴/۴۲±۰/۴۴ bd	۷/۹۵±۰/۵۴ bd
رژیم غذایی پر چرب	۶۶/۷۵±۳/۲۱ acd	۸۹/۳۵±۲/۷۴ acd	۲۷۵/۵۶±۱۱/۲۵ acd	۱/۳۱±۰/۰۸ acd	۳/۱۶±۰/۲۵ acd	۵/۲۱±۰/۲۱ acd
رژیم غذایی پر چرب + کلوفیبرات	۵۰/۶۹±۲/۱۵ b	۶۴/۲۰±۱/۲۷ b	۱۹۹/۸۷±۷/۶۳ b	۰/۸۹±۰/۰۶ b	۴/۳۵±۰/۳۸ b	۷/۰۵±۰/۴۴ b
رژیم غذایی پر چرب + پودر زرد چوبه ۵٪	۵۸/۲۶±۲/۷۴ ab	۷۴/۱۵±۲/۴۲ ab	۲۲۷/۴۳±۵/۸۲ ab	۱/۰۸±۰/۰۷ ab	۳/۷۷±۰/۲۰ ab	۵/۸۸±۰/۳۹ ab

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (mean±SEM) برای ۱۰ سر موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است. a: اختلاف معنی‌دار با گروه ۱، b: اختلاف معنی‌دار با گروه ۲، c: اختلاف معنی‌دار با گروه ۳، d: اختلاف معنی‌دار با گروه ٤ ($p<۰/۰۵$).

ب- تاثیر پودر زردچوبه بر تغییرات متابولیسم چربی ناشی از رژیم غذایی پرچرب

نتایج تاثیر پودر زردچوبه بر تغییر پروفایل چربی سرم ناشی از تغذیه با رژیم پرچرب در جدول ۳ آورده شده است. در گروه شاهد مثبت، کلوفیبرات (۳۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) سطوح کاملاً افزایش یافته(markedly increased) سرمی تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، LDL-C و VLDL-C را در مقایسه با گروه تغذیه با جیره پر چرب، به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) کاهش و مقدار اندک کاهش یافته (slightly HDL-C decreased) را در مقایسه با این گروه به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) افزایش دادند. در گروه تغذیه با جیره پر چرب + پودر زردچوبه مقادیر افزایش یافته تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، LDL-C و VLDL-C سرم در مقایسه با گروه تغذیه با جیره پر چرب، به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) کاهش و مقدار HDL-C سرم را در مقایسه با این گروه به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- تاثیر پودر زرد چوبه بر تغییرات سطح لیپیدهای سرم در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

گروه‌ها	تری‌گلیسرید (mg/l)	کلسترول تام (mg/l)	LDL-C (mg/l)	VLDL-C (mg/l)	HDL-C (mg/l)
شاهد سالم	۸۸/٦۸±٤/۲۱	۸۳/٦٥±۳/٥۸	۱۳/٦۹±۰/۸۳	۱۹/٤٥±۱/۱٦	٥۰/٥۱±۳/۲٦
رژیم پر چرب	۲۳۳/٦۱±٦/۹۰	۲۱۸/۱٤±۷/۸۱	۱۲۲/۷۲±٤/۷٥	٤۹/٥۲±۲/۲۱	٤٥/۹۰±۲/۳٤
رژیم پر چرب + کلوفیبرات	^{c}۹٥/۸۷±۳/٤۲	۱۱۰/۲۸±٤/۲۹^{c}	۲٥/٥٤±۱/۰۹^{c}	۳۱/۳۲±۱/۱٥^{c}	٥۳/٤۲±٤/۳۸^{b}
رژیم پر چرب + پودر زرد چوبه ٥٪	۱۷۳/٦۲±٥/۳۱^{b}	۱۳٤/۱٥±٤/٥٦^{b}	٤۹/٦۲±۳/۷۱^{b}	۳۳/۰۷±۲/٥۰^{b}	٥۱/٤٦±۳/٤۱^{a}

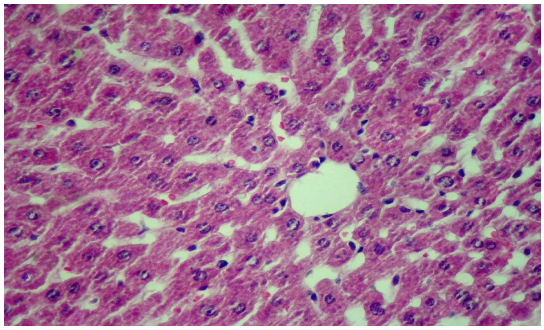
مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (mean±SEM) برای ۱۰ سر موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است.

a، $p<۰/۰٥$؛ b، $p<۰/۰۱$ و c، $p<۰/۰۰۱$، در مقایسه با گروه رژیم پرچرب

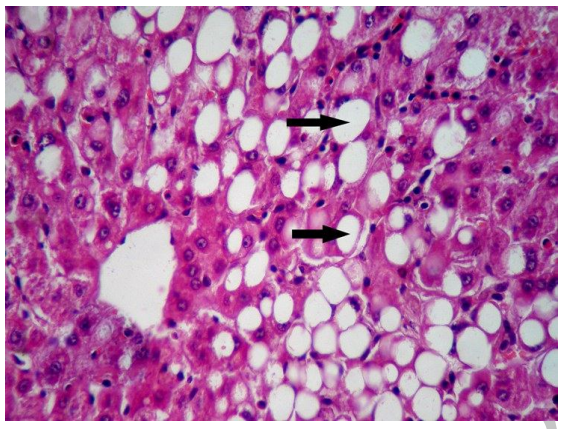
ج- مطالعه هیستوپاتولوژی تاثیر پودر زردچوبه بر آسیب بافت کبد ناشی از رژیم پرچرب

در مطالعات ریزبینی، هیچگونه حالت غیر طبیعی در بافت کبد موش‌های گروه شاهد سالم مشاهده نشد (نگاره ۱). در حالی که، در موش‌های گروه تغذیه با جیره پر چرب که به مدت ٦ هفته فقط با جیره پرچرب تغذیه شده بودند، استئاتوز شدید بافت کبد به صورت تغییر چربی ماکروزیکولر و گاهاً میکروزیکر همراه با تورم هپاتوسیت‌ها ایجاد شده بود (نگاره ۲). کلوفیبرات در موش‌های گروه کنترل مثبت که جیره پرچرب دریافت می‌کردند، مانع از بروز استئاتوز کبد شد. (نگاره ۳). در گروه تغذیه با جیره پر چرب + پودر زردچوبه از بروز تغییر چربی در هپاتوسیت‌ها به‌طور قابل توجهی جلوگیری شد (نگاره ٤).

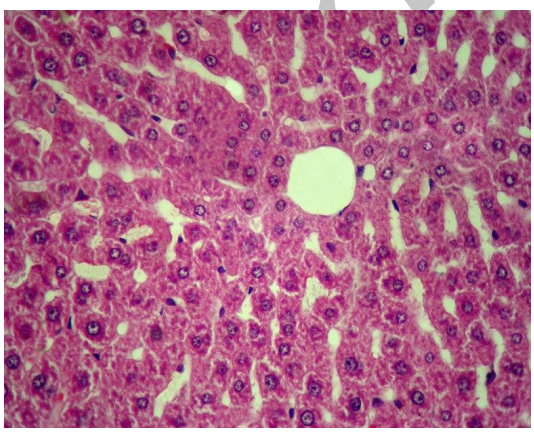
تاثیر پودر زردچوبه بر درجه‌بندی پاتولوژیک استئاتوز کبد در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرچرب در جدول ٤ آورده شده است.



نگاره ۱ـ نمای ریزبینی از بافت کبد گروه شاهد سالم هپاتوسیت‌ها و ساختار بافت کبد طبیعی می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ×٤۰).

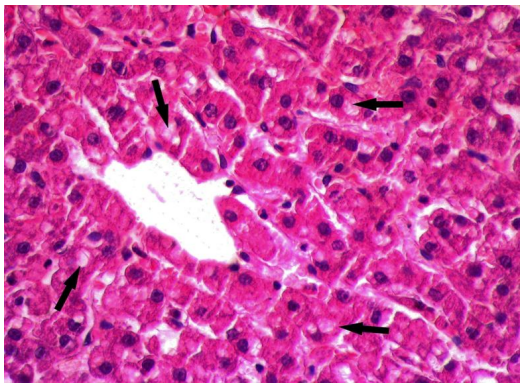


نگاره ۲ـ نمای ریزبینی از بافت کبد گروه تغذیه با رژیم پرچرب که تغییر چربی با تشکیل ماکروزیکول‌ها (پیکان‌ها) مشخص می‌باشد (رنگ-آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ×٤۰).



نگاره ۳ـ نمای ریزبینی از بافت کبد گروه تغذیه با رژیم پر چرب + کلوفیبرات. بافت کبد طبیعی بوده و تغییر پاتولوژیک خاصی در آن مشاهده نمی‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ×٤۰).

www.SID.ir



نگاره ٤ـ نمای ریزبینی از بافت کبد گروه تغذیه با رژیم پر چرب + پودر زرد چوبه. تغییر چربی خفیف بوده و وزیکول‌های چربی (پیکان‌ها) به‌صورت پراکنده قابل مشاهده می‌باشند. (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ×٤٠).

جدول ٤ـ تاثیر پودر زرد چوبه بر استئاتوز بافت کبد موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

گروه‌ها	درجات استئاتوز کبد					P
	صفر	١	٢	٣	٤	
شاهد سالم	١٠	٠	٠	٠	٠	
رژیم پر چرب	٠	٠	١	٢	٧	a
رژیم پر چرب + کلوفیبرات	٥	٣	٢	٠	٠	c
رژیم پر چرب + پودر زرد چوبه	١	٣	٥	١	٠	bd

هر گروه شامل ١٠ سر موش صحرایی بوده و ارقام نشان‌دهنده تعداد موش‌ها برای هر درجه از شدت استئاتوز می‌باشد.
a: $p<$ ٠/٠١ و b: $p<$ ٠/٠٥ در مقایسه با گروه شاهد سالم. c: $p<$ ٠/٠١ و d: $p<$ ٠/٠٥ در مقایسه با گروه رژیم پرچرب.

بحث

افزایش فعالیت آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد شامل AST، ALT و ALP در سرم نشانگر آسیب کبد می‌باشد (١٠). از آنجائی‌که تغییر در میزان سرمی مارکرهای فوق طی استئاتوز کبد نیز قبلاً گزارش گردیده است (٤٤و ٣٢)، 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 دارد. این یافته با نتایج Chidambarama و همکارانشان در سال ٢٠١٠ همخوانی دارد (١٠). تیمار با پودر زردچوبه 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 قیاس می‌باشد. در این مطالعه، نتایج بیوشیمیایی به دست آمده با یافته‌های هیستوپاتولوژی نیز مورد تائید قرار گرفت به طوری که، موش‌هایی که به مدت ٦ هفته با جیره پرچرب تغذیه شده بودند، درجات بالایی از استئاتوز کبد را بروز دادند. در هر صورت، ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی اثرات ضد هپاتواستئاتوزی پودر زردچوبه را در موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب نشان داد به طوری که، پودر زردچوبه به‌طور قابل ملاحظه‌ای مانع از رسوب چربی در هپاتوسیت‌ها شده بود. مشاهدات ریزبینی در توافق با یافته‌های بیوشیمیایی، با نتایج مطالعه Wang و همکارانش در سال ٢٠٠٩ همسو می‌باشد (٤٤). 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

Archive of SID
www.SID.ir

باعث پیشرفت استئاتوز به سمت استئاتوهپاتیت، فیبروز و سیروز می‌شود (۲۵). با توجه به ارتباط بین استرس اکسیداتیو و آسیب بافت‌ها (۱۰)، بررسی حاضر تائید می‌کند که رژیم غذایی پرچرب می‌تواند باعث آسیب اکسیداتیو کبد شود. برای ارزیابی اثرات پودر زردچوبه بر متابولیسم لیپیدی که نقشی اساسی در بروز کبد چرب دارد، مقادیر سرمی TG، TC، VLDL-C، HDL-C و LDL-C مورد سنجش قرار گرفت. پس از ٦ هفته تیمار، سطوح سرمی TG، TC، VLDL-C و LDL-C در موش‌های گروه تغذیه با رژیم پرچرب در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. این نتایج با یافته‌های مطالعات Zou و همکاران در سال ۲۰۰٦ همراستا می‌باشد (٤٥). تیمار موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب توسط پودر زردچوبه، باعث برگشت تغییرات فوق به حالت طبیعی موجود در گروه شاهد شد. تیمار با پودر زردچوبه، سطوح سرمی افزایش یافته TG، TC، VLDL-C و LDL-C را در موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب، به طور معنی‌داری کاهش داد و مقدار کاهش یافته HDL-C را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. تغییرات هیستولوژیک کبد در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرچرب، یعنی تشکیل قطرات چربی در داخل سلول‌های پارانشیماتوز کبد، با نتایج آنالیزهای بیوشیمایی لیپیدهای سرم همراستا هستند. این نتایج نشان می‌دهند که پودر زرد چوبه می‌تواند از وقوع هپاتواستئاتوز از طریق کاهش تجمع لیپیدها در سرم و کبد ممانعت کند. کبد نقشی اساسی را در متابولیسم چربی در بدن به عهده داشته و استئاتوز کبد نشان از تجمع بیش از حد لیپیدها در هپاتوسیت‌ها به دلیل عدم تعادل در تشکیل و تجزیه چربی دارد (۹). هیپرکلسترولمی، هیپرتری-گلیسریدمی، میزان کم HDL-C و سطوح بالای LDL-C در سرم اختلالات معمولی هستند که در هومئوستاز لیپیدی مبتلایان به استئاتوز کبد رخ می‌دهد (۳). تحقیقات نشان داده است که پودر زرد چوبه دارای اثرات هیپولیپیدمیک می‌باشد (٤١). در این مطالعه، زرد چوبه به طور معنی‌داری شواهد بیوشیمیایی و هیستولوژیک مربوط به تجمع چربی در بافت کبد را بهبود بخشید. این نتایج نشان می‌دهد که زرد چوبه اختلالات ایجاد شده در متابولیسم چربی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را کاهش می‌دهد. بررسی حاضر نشان می‌دهد که زرد چوبه به عنوان یک کاروتنوئید گلیکوزیله از تجمع چربی در بافت کبد در اثر تغذیه با رژیم غذایی پرچرب جلوگیری کرده و اثرات محافظتی آن از طریق تنظیم سطوح سرمی TG، TC، VLDL-C، HDL-C و LDL-C انجام می‌پذیرد. این تغییرات با کاهش مارکرهای سرمی آسیب کبد همراه می‌باشد که مانع از پیشرفت استئاتوز به استئاتوهپاتیت نیز می‌گردد. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که زرد چوبه دارای اثرات محافظتی از وقوع بیماری کبد چرب بوده و باعث بهبود ساختار هیستوپاتولوژیک بافت کبد و کاهش بیومارکرهای سرمی آسیب کبد در برابر رژیم‌های غذایی پرچرب می‌شود که نقش خود را احتمالاً از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌دارد. خاطرنشان می‌گردد که این مطالعه روی حیوان انجام پذیرفته و اینکه آیا این ماده دارای اثرات مشابهی بر روی انسان هست یا خیر، و همچنین مقایسه تاثیر مقادیر مختلف مصرف پودر گیاه زرد چوبه نیاز به مطالعات آتی دارد.

تشکر و سپاسگزاری: این مقاله از طرح تحقیقاتی که با بودجه پژوهشی و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است استخراج شده است.

REFERENCES

1-Ammon, H.P., Wahl, M.A. (1991): Pharmacology of curcuma longa, Planta Med. 57:1–7.

2-Anand, P., Thomas, S.G., Kunnumakkara, A.B., Sundaram, C., Harikumar, K.B., Sung, B., Tharakan, S.T., Misra, K., Priyadarsini, I.K., Rajasekharan, K.N., Aggarwal, B.B. (2008): Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. Biochem. Pharmacol. 76 (11):1590-1611.

Archive of SID

www.SID.ir

3-Angulo, P., Lindor, K.D (2007): Non-alcoholic fatty liver disease. J. Gastroenterol. Hepatol. 17 Suppl: S186–190.

4-Arun, N., Nalini, N. (2002): Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. Plant Foods Hum. Nutr. 57:41–52.

5-Assy, N., Kaita, K., Mymin, D., Levy, C., Rosser, B., Minuk, G. (2000): Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients. Dig. Dis. Sci. 45(10):1929–1934.

6-Barbuio, R., Milanski, M., Bertolo, M., Saad, M.J., Vellosa, L.A. (2007): Infliximab reverses steatosis and improves insulin signal transduction in liver of rats fed a high-fat diet. J. Endocrinol. 194(3):539–550.

7-Brouet, I., Ohshima, H. (1995): Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun. 206:533–540.

8-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. Gastroenterol. 94(9):2467–2474.

9-Burt, A.D., Mutton, A., Day, C.P. (1998): Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. Semin Diagn Pathol. 15(4):246–258.

10-Chidambarama, J., Carani Venkatraman, A. (2010): Cissus quadrangularis stem alleviates insulin resistance, oxidative injury and fatty liver disease in rats fed high fat plus fructose diet. Food Chem. Toxicol. 48(8-9):2021-2029.

11-Clark, J.M., Brancati, F.L., Diehl, A.M. (2002): Nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 122(6):1649–1657.

12-Day, C.P. (2006): From fat to inflammation. Gastroenterology. 130(1):207-210.

13-Day, C.P, James, O.F. (1998): Steatohepatitis: a tale of two "hits"? Gastroenterology. 114(4):842-5.

14-Deodhar, S.D., Sethi, R., Srimal, R.C. (1980): Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin (diferuloyl methane). Indian J. Med. Res. 71:632–634.

15-Deshpande, S.S., Lalitha, V.S., Ingle, A.D., Raste, A.S., Gadre, S.G., Maru, G.B. (1998): Subchronic oral toxicity of turmeric and ethanolic turmeric extract in female mice and rats. Toxicol. Lett. 95:183-193.

16-Dikshit, M., Rastogi, L., Shukla, R., Srimal, R.C. (1995): Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart. Indian J. Med. Res. 101:31–35.

17-Dixon, J.B., Bhathal, P.S., O'Brien, P.E. (2001): Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. Gastroenterology. 121(1):91–100.

18-Donnelly, K.L., Smith, C.I., Schwarzenberg, S.J., Jessurun, J., Boldt, M.D., Parks, E.J. (2005): Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. J. Clin. Invest. 115(5):1343-51.

19-Farrell, G.C. (2003): Non-alcoholic steatohepatitis: what is it, and why is it important in the Asia-Pacific region. J. Gastroenterol. Hepatol. 18(2):124–138.

20-Hokanson, J.E. (200): Hypertriglyceridemia and risk of coronary heart disease. Curr. Cardiol. Rep. 4(6):488–493.

21-James, O., Day, C. (1999): Non-alcoholic steatohepatitis: another disease of affluence. Lancet. 353(9165):1634–1636.

22-Kametani, T., Koshida, H., Nagaoka, T., Miyakoshi, H. (2002): Hypertriglyceridemia is an independent risk factor for development of impaired fasting glucose and diabetes mellitus: a 9-year longitudinal study in Japanese. Intern. Med. 41(7):516–521.

23-Kind, P.R., King, E.J. (1954): Estimation of plasma phosphates by determination of hydrolyzed phenol with antipyrine. J. Clin. Pathol. 7(4): 322-326.

24-Kiso, Y., Suzuki, Y., Watanabe, N., Oshima, Y., Hikino, H. (1983): Antihepatotoxic principles of Curcuma longa rhizomes, Planta Med., 49:185–187.

Archive of SID

www.SID.ir

25-Koteish, A., Diehl, A.M. (2001): Animal models of steatohepatitis. Semin. Liver Dis. 21(1):89-104.

26-Lee, G., Luna, H.T. (1988): Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd edition. The Blakiston Division Mc Graw. Hill Book Company, New York. P: 32-107.

27-Limtrakul, P., Lipigorngoson, S., Namwong, O., Apisariyakul, A., Dunn, F.W. (1997): Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. Cancer Lett. 116:197–203.

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(1):265-275.

29-Malloy, H.T., Evelyn, K.A. (1937): The determination of bilirubin level with the photoelectric colorimeter. J. Biol. Chem. 119(2):481-484.

30-Nirmala, C., Puvanakrishnan, R. (1996): Protective role of curcumin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. Mol. Cell. Biochem. 159:85–93.

31-Orrenius, S., Gogvadze, V., Zhivotovsky, B. (2007): Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 47:143–183.

32-Paul Angulo, P. (2002): Non alcoholic fatty liver disease. N. Engl. J. Med. 18 (346):1221–1231.

33-Postic, C., Girard, J. (2008): Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. J. Clin. Invest. 118(3):829-38.

34-Rao, C.V., Rivenson, A., Simi, B., Reddy, B.S. (1995): Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. Cancer Res. 55:259–266.

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(1): 56-63.

36-Sheng, L., Qian, Z., Zheng, S., Xi, L. (2006): Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: Crocin inhibits pancreatic lipase. Eur. J. Pharmacol. 543 (1-3):116-122.

37-Sreejayan and Rao, M.N. (1997): Nitric oxide scavenging by curcuminoids. J. Pharm. Pharmacol. 49:105–107.

38-Srivastava, R., Dikshit, M., Srimal, R.C., Dhawan, B.N. (1985): Anti-thrombotic effect of curcumin. Thromb. Res. 40:413–417.

39-Srinivasan, M. (1972): Effect of curcumin on blood sugar as seen in a diabetic subject. Indian J. Med. Sci. 26:269–270.

40-Suresh Babu, P., Srinivasan, K. (1995): Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. Mol. Cell Biochem. 152:13–21.

41-Suresh Babu, P., Srinivasan, K. (1997): Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric Curcuma longa in streptozotocin induced diabetic rats. Mol. Cell Biochem. 166:169–175.

42-Venkatesan, N. (1998): Curcumin attenuation of acute adriamycin myocardial toxicity in rats. Br. J. Pharmacol. 124:425–427.

43-Walldius, G., Aastveit, A., Jungner, I. (2004): Hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia greatest cardiac risk in subjects with high apoB/apoA-I levels. Int. Congr, Ser. 1262:203–206.

44-Wang, J.Q., Li, J., Zou, Y.H., Cheng, W.M., Lu, C., Zhang, L., Ge, J.F., Huang, C., Jin, Y., Lv, X.W., Hu, C.M., Liu, L.P. (2009): Preventive effects of total flavonoids of Litsea coreana leve on hepatic steatosis in rats fed with high fat diet. J. Ethnopharmacol. 121(1):54-60.

45-Zou, Y., Li, J., Lu, C., Wang, J., Ge, J., Huang, Y., Zhang, L., Wang, Y. (2006): High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sci. 79(11):1100–1107.

Archive of SID

www.SID.ir