



بررسی تأثیر عصاره هیدرولالکلی هسته انگور و جفت میوه بلوط (*Quercus specie*)

بر سمیت ناشی از تتراکلریدکربن در کبد موش‌های صحرایی

علی میرزائی^{*}، نوشین میرزائی^آ، مهسا میرزائی^آ، حمداده دلاویز^۳

^۱ گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

^۲ گروه میکروب‌شناسی، دانشکده فرگوسن، دانشگاه پونا هندستان

^۳ گروه داروسازی، دانشکده سینا گاد، دانشگاه پونا هندستان

^۴ گروه آناتومی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

چکیده

زمینه روغن هسته انگور بهدلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی، بهخصوص آنتوسبیانیدین که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، مورد توجه متخصصین قرار گرفته است. به علاوه اینکه امروزه علاقه به درمان بیماری‌ها با استفاده از داروهای طبیعی، منجر به افزایش استفاده از گیاهان دارویی شده است. در این تحقیق اثر حفاظتی مخلوط مساوی عصاره هسته انگور و جفت بر روی سمیت ناشی از تتراکلریدکربن در کبد موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۲۸ سر موش‌های صحرایی نر، نژاد ویستار استفاده شد. در گروه (۱) و (۲)، روزانه یکبار، به مدت ۷ روز مقدار نیم میلی‌لیتر آب مقطر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش گاواز و از روز سوم، روزانه بهمدت ۵ روز بهتر تیپ میزان نیم میلی‌لیتر بر کیلوگرم روغن زیتون و یک میلی‌لیتر بر کیلوگرم محلول تتراکلریدکربن با حال روغن زیتون (بهنسبت مساوی) بهصورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه (۳) و (۴) روزانه یکبار بهمدت ۷ روز بهمیزان ۲۰۰ میلی‌گرم محلوت مساوی عصاره هیدرولالکلی هسته انگور با جفت بهمازای هر کیلوگرم وزن بدن گاواز شد و بهطور همزمان از روز سوم، بهمدت ۵ روز بهتر تیپ میزان نیم میلی‌لیتر در کیلوگرم روغن زیتون و یک میلی‌لیتر بر کیلوگرم (محلول تتراکلرید کربن با حال روغن زیتون به نسبت مساوی) بهصورت داخل صفاقی تزریق شد.

یافته‌ها: در گروه دریافت‌کننده تتراکلریدکربن افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم‌های الکالین فسفاتاز، اسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و بیلی‌روین نسبت به گروه کنترل دیده شد. مصرف محلوت مساوی عصاره هسته انگور و جفت (گروه تیمار) قادر به کاهش فعالیت ترانس آمینازهای کبدی، الکالین فسفاتاز و بیلی‌روین بهطور معنی داری شد. میانگین سطح سرمی اسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، الکالین فسفاتاز و بیلی‌روین در گروه دریافت‌کننده محلوت عصاره‌ها، نسبت به گروه کنترل (روغن زیتون) تغییرات معنی داری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه مصرف مساوی عصاره‌های هسته انگور و جفت در گروه (تیمار) منجر به کاهش معنی داری در فعالیت اسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، الکالین فسفاتاز و بیلی‌روین نسبت به گروه (سم) شد، لذا میتوان گفت که محلوت عصاره‌ها دارای اثرات حفاظت کبدی می‌باشند.

وازگان کلیدی: عصاره هسته انگور، الکالین فسفاتاز، آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز، میوه بلوط

دریافت مقاله: ۹۰/۲/۱۲ - پذیرش مقاله: ۹۰/۴/۱۸

* یاسوج، پردیس علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی

مقدمه

تحت تأثیر نوع هیدروکسیلاسیون (قرار گرفتن عوامل هیدروکسیل در موقعیت‌های ارتو، پارا، متا) می‌باشد. همچنین قرار گرفتن ترکیبات قندی بر روی ساختار فلاونوئیدها می‌تواند باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها شود (۸). این ترکیبات می‌توانند به خوبی رادیکال‌های هیدروکسی و پراکسی راسمه‌زادایی و خشتشکنند و با فلزات تولید کمپلکس نموده و مانع از اکسیداسیون لیپیدها شوند (۹). انگور یکی از بزرگ‌ترین محصول میوه‌ای در جهان است که تولید سالیانه آن بالغ بر ۶۰ میلیون تن می‌باشد (۱۰).

ترکیبات فنلی موجود در انگور و فراوردهای حاصل از آن باعث مهار اکسیداسیون انواع لیپو پروتئین‌ها در انسان و در شرایط آزمایشگاه (*In vitro*) می‌شود (۱۱). دانه‌های انگور منبع غنی از ترکیبات فنلی منومر از جمله کاتچین، اپیکاتچین و اپیکاتچین-۳-گالات و همچنین ترکیبات مختلف پروسانیدینی می‌باشد که دارای خواص ضدسرطانی و ضدبیروسی می‌باشند و ممکن است در جلوگیری از تصلب شرائین مؤثر باشند (۱۲ و ۱۳). خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته انگور غالباً به خاطر غلظت بالای آنتوسیانیدین موجود در آن می‌باشد (۱۴). میوه انگور شامل پوست و هسته می‌باشد که سرشار از ترکیبات فنلی و فیبر می‌باشد (۱۵).

روغن هسته انگور غنی از اسیدهای چرب غیراشباع بوده که بیش از ۸۰ درصد آن را اسیدلیتوئیک تشکیل می‌دهد (۱۶). میوه بلوط از درخت بلوط به دست می‌آید. جنگل‌ها و مراعت استان کهگیلویه و بویراحمد از پوشش گیاهی متنوعی برخوردار است و سطح کل آن بالغ بر ۱۴۰۰۰۰ هکتار برآورد می‌گردد که حدود ۱/۳ گیاهان دارویی کشور در این جنگل‌ها

بیماری‌های کبدی منجمله هپاتیت یکی از مشکلات جهانی است که همراه با مرگ و میر بالائی است (۱). از دیرباز برای درمان این بیماری در طب سنتی از گیاهان داروئی استفاده شده است. اخیراً اغلب داروهای مورد استفاده جهت درمان بیماری‌های کبدی بی‌خطر نیستند و مصرف بعضی از آنها همراه با عوارض جانبی است. امروزه تمایل زیادی برای استفاده از داروهای گیاهی جهت درمان بیماری‌های کبدی وجود دارد.

صرف میوه و سبزی همراه با کاهش ابتلا به سرطان می‌باشد که توسط بلوک و همکاران با انجام ۲۰۰ مطالعه بهاثبات رسید و در ۸۲ درصد از مطالعات آنها اثر حفاظتی میوه و سبزی از ارگان‌های بدن به خوبی روشن شده است. همچنین در مطالعه دیگری مشاهده شد که ارتباط تنگاتنگی بین مصرف میوه و سبزی و کاهش ابتلا به بیماری‌های قلبی، عروقی، دیابت، پیری و سرطان وجود دارد (۲ و ۳).

یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در گیاهان می‌باشند. ترکیبات فنلی یا پلی‌فنل‌ها که به طور گسترده در گیاهان وجود دارند، بالغ بر ۸۰۰۰ نوع گزارش شده است (۴). این ترکیبات دارای خاصیت ضدآکسیدانی، ضدالتهابی، ضدترومبوز، ضدمیکروبی، ضدآلرژی و دارای پتانسیل محافظت قلبی و گشادکننگی عروق می‌باشند (۵ و ۶). فلاونوئیدها فراوان‌ترین ترکیبات فنلی می‌باشند که تقریباً در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی به خصوص در برگ‌ها و در مواد غذایی مانند میوه‌ها و سبزیجات به میزان زیادی وجود دارند (۷). فلاونوئیدها نیز دارای قوی‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در بین ترکیبات فنلی می‌باشند که این خاصیت نیز

نیز به آن افزوده گردید و در مدل هپاتوتکسیکی کبد موش صحرایی مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت.

روش تهیه عصاره هسته انگور

انگور قرمز از باگهای شهر سی سخت تهیه و پس از شستن و خشک کردن، هسته‌ها از میوه جدا و آسیاب شدند. مقدار ۷۵ گرم پودر هسته انگور به ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور (ممرا آلمان) نگهداری شد. روزانه به مدت سه ساعت بر روی دستگاه روتاتور با ۲۰۰ دور در دقیقه چرخانده و بعد با کاغذ صافی و اتمن شماره یک فیلتر و سپس حلال محلول فیلتر شده، با دستگاه تبخیر کننده چرخان (هیدلف آلمان مدل ۴۰۰۰) تبخیر شد (۲۶) و عصاره خشک به دست آمد. این عمل سه بار تکرار شد و کل نمونه‌ها جمع‌آوری و در یخچال تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش تهیه عصاره جفت

ابتدا میوه بلوط در کوه‌های اطراف شهر یاسوج تهیه و پس از تعیین نوع بلوط توسط متخصص گیاه‌شناس (برانتی)، مقداری از نمونه‌ها در آزمایشگاه گیاهان داروئی به شماره هرباریومی MPRC 05-6 نگهداری شد.

برای عصاره‌گیری ابتدا پوست خارجی میوه که ساختاری محکم داشت کنده و سپس پوسته درونی که لایه نازکی بود و بر روی مغز میوه قرار گرفته بود جمع‌آوری و پس از خشک کردن آن در سایه،

و مراعع رویش می‌نماید که دارای درختان بلوط بسیار زیادی می‌باشد (۱۷).

جفت قسمتی از میوه درخت بلوط (Quercus species) است. میوه بلوط دارای دو پوسته داخلی و خارجی می‌باشد که در بعضی از مناطق جنوب کشور به پوسته داخلی یا پوسته روی مغز میوه بلوط که قهوه‌ای رنگ است جفت (Jaft) می‌گویند. درخت بلوط به طور وسیعی در نواحی شمالی، مرکزی و جنوب ایران وجود دارد (۱۸). بلوط نوع برانتی در یاسوج وجود دارد که در درمان اختلالات دستگاه گوارشی (۱۹) به خصوص اسهال، التهاب، سوختگی، بریدگی (۲۰) و سرطان به کار می‌رود (۲۱).

جفت همچنین در چرم‌سازی، حفاظت از تورهای ماهی‌گیری، تولید پلاستیک، تولید چسب، صنایع سرامیک، پالایش نفت، تثیت رنگ‌ها، ترکیبات ضدتعرق، داروسازی و استخراج فلزات به کار می‌رود (۲۲).

میوه بلوط به خاطر ترکیبات فنلی و وجود تانن‌ها دارای خاصیت مهار پراکسیداسیون چربی‌ها و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۳ و ۲۴). علاوه بر این میوه بلوط به عنوان غذا، علوفه دام و همچنین در صنایع دستی و چرم‌سازی به کار می‌رود (۲۲).

بر اساس آزمایشات انجام شده بر روی جفت توسط گروه تحقیقاتی ما مشخص شد که عصاره آبی و هیدروالکلی جفت دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی و دارای میزان فنل و فلاونوئید بالائی بود (نتایج انتشار نشده است).

با توجه به اینکه عصاره هیدروالکلی هسته انگور به تنهایی دارای خاصیت قوی محافظت کبدی نبود (۲۵). در این تحقیق به منظور بالا بردن قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره انگور، عصاره هیدروالکلی جفت

بررسی محافظت کبدی

حیوانات مورد مطالعه در قفس‌های پلاستیکی نگهداری و روزانه یکبار، غذای آنها تعویض می‌شد. رژیم غذایی آنها غذای فشرده موش صحرایی بود که از کارخانه خوارک دام پارس (شرکت سهامی عام) تهیه شده بود. قفس‌ها در اتفاقی به ابعاد چهار در چهار متر، با درجه حرارت ۲۴ درجه سانتی‌گراد سیکل روشنائی و تاریکی ۱۲ ساعته بود. این مطالعه تجربی، شامل ۲۸ سر از موش‌های صحرایی نر و سالم با محدوده وزنی ۱۴۵-۱۳۲ گرم بود که به صورت تصادفی در ۴ گروه ۷ تائی تقسیم شدند که در شرایط یکسان از لحاظ آب، غذا و دمای محیط نگهداری شدند.

در گروه (۱) یا کترل منفی روزانه یکبار، به مدت ۷ روز نیم میلی‌لیتر آب مقطر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش گاواظ و از روز سوم، روزانه به مدت ۵ روز، میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون، به صورت داخل صفاقی تزریق و تجویز شد.

در گروه (۲) یا تراکلریدکربن روزانه یکبار، به مدت ۷ روز حجم نیم میلی‌لیتر آب مقطر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش گاواظ و از روز سوم، روزانه به مدت ۵ روز، میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول تراکلریدکربن در حلال روغن زیتون، به نسبت مساوی به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه (۳) یا کترل عصاره روزانه یکبار، به مدت ۷ روز، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از مخلوط عصاره‌ها به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش گاواظ شدند و به طور همزمان از روز سوم روزانه، به مدت ۵ روز، میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون، به صورت داخل صفاقی، تزریق شد.

گروه (۴) یاتیمار: روزانه، به مدت ۷ روز، میزان ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط عصاره‌ها به‌ازای هر کیلوگرم وزن

عصاره‌گیری به روش بالا انجام گرفت (۲۶). برای انجام آزمایش مقدار مساوی عصاره جفت و عصاره هسته انگور مخلوط شد.

تعیین LD₅₀ (lethal dose 50) (دوز متوسط

کشنده) به روش دهانی

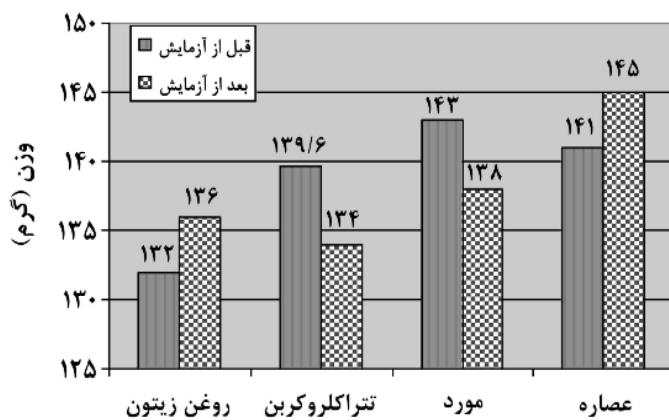
دوز متوسط کشنده عصاره هیدروالکلی جفت، هسته انگور و مخلوط عصاره‌ها به طور جداگانه با استفاده از روش ریاضی کاربر (Karber) محاسبه شد (۲۷).

دوز متوسط کشنده دهانی نیمی از حداقل مقدار ماده‌ای است که وقتی از راه دهان گاواظ شود سبب مرگ حیوانات مورد آزمایش گردد و مقدار آن بر حسب وزن ماده مورد تحقیق در واحد وزن حیوان مورد آزمایش محاسبه شد.

برای تعیین دوز متوسط کشنده دهانی به روش استاندارد جهت هر نمونه از شش گروه سه تائی موش نر از نژاد ویستان استفاده گردید. سپس هر ماده مورد آزمایش به طور جداگانه مقدار ۱۰۰۰ الی ۵۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن موش‌ها در یک نوبت به صورت دهانی تجویز گردید. وضعیت حیوانات بلاfaciale پس از تجویز عصاره‌ها تا چهار ساعت به طور پیوسته و بعد تا ۷۲ ساعت هر چهار ساعت یک بار و سرانجام به مدت ۱۴ روز روزانه تحت مراقبت قرار گرفته و هرگونه علائم غیرعادی منجمله مسمومیت نیز ثبت شد (۲۸).

در این مطالعه برای ایجاد آسیب کبدی در موش‌های صحرایی از تراکلریدکربن استفاده شد (۲۹) و برای بهبود آسیب ایجاد شده مخلوط مساوی عصاره هیدروالکلی هسته انگور و جفت (جزئی از میوه درخت بلوط) مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره هیدروالکلی هسته انگور، عصاره هیدروالکلی جفت و مخلوط هر دو عصاره تا غلاظت ۵۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم دیده نشد. پس میزان LD ۵۰ هر دو عصاره هیدروالکلی هسته انگور، عصاره هیدروالکلی جفت هر کدام به طور جداگانه و مخلوط عصاره‌های هیدروالکلی هسته انگور و جفت همگی به روش دهانی در موش‌های نر نژاد ویستار بیشتر از ۵۰۰۰ میلی گرم در گیلوگرم وزن گزارش شد. در پایان مطالعه تغییرات معنی‌داری در میانگین وزن موش‌ها در تمام گروه‌ها در مقایسه با کنترل منفی دیده نشد (نمودار ۱).



نمودار ۱) اثرات مخلوط مساوی عصاره هیدروالکلی هسته انگور و جفت (قسمتی از میوه بلوط) بر وزن موش‌های صحرایی هپاتوکسیک قبیل و بعد از آزمایش

میانگین سطح سرمی آنزیم‌های الکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوتранسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و بیلی‌رویین در گروه تتراکلریدکربن، نسبت به گروه کنترل منفی (روغن زیتون)، افزایش معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.001$) (نمودار ۲-۳).

در گروه دریافت‌کننده مخلوط عصاره‌ها (کنترل عصاره) میانگین سطح سرمی آنزیم‌های الکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوتранسفراز، آلانین آمینوتранسفراز و بیلی‌رویین، نسبت به گروه کنترل (روغن زیتون) تغییرات معنی‌داری دیده نشد.

بدن موش گاواز شد و به طور همزمان، از روز سوم، روزانه به مدت ۵ روز، میزان یک میلی‌متر در کیلوگرم محلول تتراکلریدکربن در حلال روغن زیتون، به صورت داخل صفاتی تزریق شد. پس از پایان آخرین تزریق و گاواز، موش‌ها به سیله دی‌اکتل اتر بیهوده شده و خون به صورت مستقیم از قلب آنها گرفته شد و سرانجام با استفاده از کشش مهره گردنی از بین رفتند. جهت مطالعه بیوشیمیابی مقدار ۳-۵ میلی‌لیتر خون استفاده شد و پس از یک ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ گردید و پس از جدا کردن سرم تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد. جهت تعیین مقدار آنزیم‌های الکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوتранسفراز، آلانین آمینوتранسفراز، بیلی‌رویین تام و بیلی‌رویین مستقیم مطابق روش‌های استاندارد با کمک دستگاه اتوآنالیز (شرکت کمول امریکا و کیت استاندارد شرکت پارس آزمون) انجام شد.

روش تجزیه داده‌ها

داده‌ها پس از جمع‌آوری با استفاده از نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل مقایسه کلی از آنالیز واریانس یک‌طرفه و جهت مقایسه زیر گروه‌ها از پس آزمون توکی استفاده گردید.

یافته‌ها

در آزمایش تعیین مقدار LD ۵۰ در طول مدت مطالعه هیچ‌گونه مورد مرگ و میر و عوارض مسمومیت با

بحث

در سال‌های اخیر محققین طب سنتی تحقیقات وسیعی در خصوص درمان بیماری‌های کبدی انجام داده‌اند که از جمله مطالعاتی که در این‌باره انجام شده می‌توان به بررسی اثرات عصاره انگور در آسیب ناشی از تراکلریدکربن و استامینوفن اشاره کرد (۳۰).

تراکلریدکربن یکی از شایع‌ترین هپاتوتوكسیک‌هایی است که برای مطالعات بیماری‌های کبدی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۱).

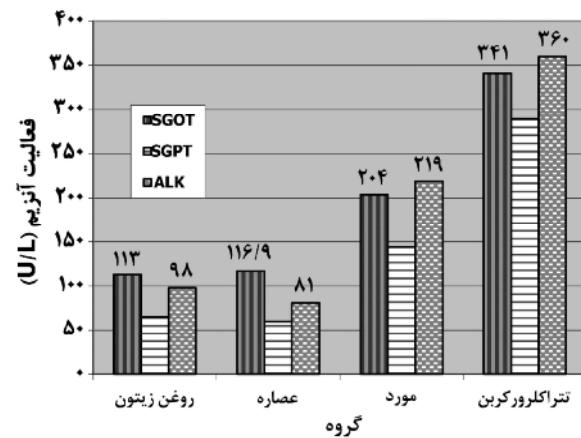
تخرب سلول‌های کبدی به‌علت شکسته شدن پیوند کربن-کلر توسط تراکلریدکربن می‌باشد که به‌دلیل آن رادیکال آزاد تری‌کلرومتیل ایجاد می‌شود. این رادیکال بسیار ناپایدار بوده و بلافاصله با ترکیبات غشاء سلولی واکنش می‌دهد و یا باعث جداسازی یک اتم هیدروژن از اسیدهای چرب غیراشباع غشاء سلولی می‌شود که این روند سرانجام منجر به‌تولید یک لبید رادیکالی و کلروفرم می‌شود. لبیدهای رادیکالی ایجاد شده پس از ترکیب با اکسیژن باعث تجزیه رتیکلوم اندوپلاسمیک شده و در نهایت باعث آزاد شدن آنزیم‌ها، مرگ و نکروز سلول‌ها می‌شوند (۳۲ و ۳۳).

در بین میوه‌جات، انگور و محصولات آن (هسته) یکی از منابع مهم فلاونوئیدها به‌حساب می‌آید که در مطالعات انجام شده خاصیت بهدام انداختن رادیکال سوپراکسید، در هسته انگور به اثبات رسیده است (۳۴ و ۳۵).

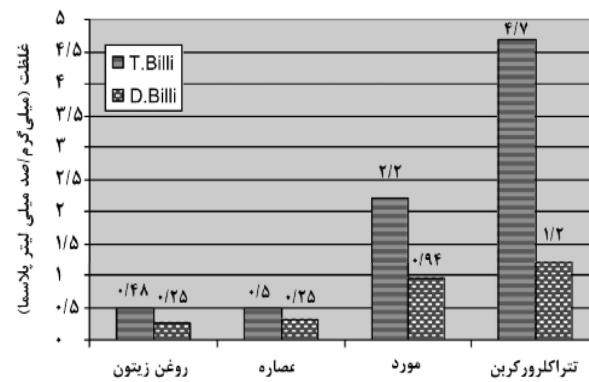
در یک تحقیق انجام شده نقش حفاظت کبدی روغن هسته انگور به خاصیت آنتی‌اکسیدانی هسته انگور نسبت داده شد (۳۵). که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. هر چند که نقش آنتی‌اکسیدانی عمدۀ ترکیب

(نمودار ۲ و ۳).

در تمام آزمایشات گروه دریافت کننده تراکلریدکربن+ مخلوط عصاره‌ها (گروه تیمار) کاهش قابل ملاحظه‌ای در فعالیت ترانس آمینازهای کبدی و بیلی‌رویین، در مقایسه با گروه تراکلریدکربن (گروه سه) دیده شد (P<0.05) (نمودار ۲ و ۳).



نمودار ۲) اثرات مخلوط مساوی عصاره هیدروالکلی هسته انگور و جفت (قسمتی از میوه بلوط) بر آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی هپاتوتوكسیک



نمودار ۳) اثرات مخلوط مساوی عصاره هیدروالکلی هسته انگور و جفت (قسمتی از میوه بلوط) بر میزان بیلی‌رویین موش‌های صحرایی هپاتوتوكسیک

افزایش معنی‌داری در میانگین فعالیت ترانس آمینازهای کبدی و میزان بیلی‌رویین در (گروه تیمار یا مود)، نسبت به گروه کنترل روغن زیتون، دیده شد (P<0.05) (نمودار ۲ و ۳).

سلول‌های کبدی وجود دارد و افزایش آن در سرمه بیانگر اختلال در عملکرد مجاری صفوایی است. تزریق سَم تتراکلریدکربن در موش‌ها باعث ایجاد التهاب، آسیب به سلول‌های پارانشیم کبدی و مجاری صفوایی شده و در نتیجه باعث افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و ترانس آمینازهای کبدی می‌شود.

در این پژوهش التهاب و آسیب ایجاد شده توسط تتراکلریدکربن بهوسیله مخلوط عصاره هیدرالکلی هسته انگور و جفت کاهش یافت. بنابراین شاید بتوان گفت که مخلوط عصاره‌ها در غلظت تجویز شده توانائی بهبود کلستاز در موش صحرائی را دارد (۳۶).

در گروه دریافت‌کننده مخلوط عصاره دانه انگور و جفت (کترل عصاره) تغییرات بیوشیمیابی معنی‌داری دیده نشد. پس می‌توان گفت که مصرف مخلوط عصاره دانه انگور و جفت در میزان تجویز شده و مدت زمان یاد شده هیچ‌گونه اختلالی در کار و یا ساختار کبد ایجاد نمی‌کند.

تجویز مخلوط عصاره‌ها به‌نهانی جهت ارزیابی سمیت و یا هرگونه تأثیر عصاره‌ها به‌کار می‌رود که در واقع به عنوان کترل عصاره‌ها قلمداد می‌شود (۳۷-۳۹). در صورتی که نتایج آزمایش این گروه (کترل عصاره) با کترل منفی اختلاف داشت به منزله این است که عصاره‌ها به‌نهانی قادرند تغییراتی ایجاد نمایند و یا دارای خاصیت سمی باشند. اگر چه مخلوط عصاره دارای حفاظت کبدی بوده و توانسته به‌طور معنی‌داری باعث کاهش فعالیت ترانس آمینازهای کبدی و میزان بیلی‌رویین در گروه تیمار شود ولی قادر به طبیعی کردن آزمایشات انجام شده و

عصاره‌ها ممکن است به‌خاطر جفت باشد.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته انگور به‌خاطر مقادیر زیاد پروانتوسیانیدین موجود در آن می‌باشد و به‌دلیل وجود این ترکیب است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین قادر به حفاظت از کبد موش سمی می‌باشد (۱۴).

در این پژوهش میزان بیلی‌رویین و فعالیت ترانس آمینازهای کبدی افزایش قابل ملاحظه‌ای در گروه دریافت‌کننده تتراکلریدکربن داشتند که این تغییرات به‌علت شدت نکروز حاصل از سَم تتراکلریدکربن بود. با توجه به نتایج آزمایشات در گروه دریافت‌کننده مخلوط عصاره‌ها + با تتراکلریدکربن (مورد یا تیمار) می‌توان گفت که عصاره هیدرالکلی مخلوط هسته انگور و جفت قادر است نکروز، تغییرات چربی هپاتوسیت‌ها را کاهش دهد. زیرا که باعث کاهش معنی‌داری در فعالیت ترانس آمینازهای کبدی و میزان بیلی‌رویین شد. بنابراین می‌توان گفت، مخلوط عصاره هیدرالکلی هسته انگور و جفت در غلظت‌های به‌کار برده شده در این تحقیق دارای اثر جمع‌آوری کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

در این تحقیق پس از تجویز تتراکلریدکربن میزان آنزیم‌های کبدی به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافتند که با مصرف مخلوط عصاره دانه انگور و جفت مقادیر آنزیم‌های افزایش یافته کاهش معنی‌داری نسبت به گروه تتراکلریدکربن داشتند (۰/۰۵<P). این یافته احتمالاً ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته انگور و جفت می‌باشد. الکالین فسفاتاز یکی از آنزیم‌هایی است که در

پیشنهاد می شود جهت بررسی بیشتر خواص آنتی اکسیدانی آنزیم های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز پلاسمائی اندازه گیری شود.

تشکر و قدردانی

نویسنده مقاله از معاونت پژوهشی وقت دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، بخش بیوشیمی و مرکز تحقیقات گیاهان داروئی به خاطر مهیا نمودن تسهیلات برای اجرای این تحقیق کمال تشکر را دارد.

یا ترمیم کامل بافت کبدی نبوده و بهمین دلیل اختلاف معنی داری بین آزمایشات در دو گروه تیمار با کنترل منفی (روغن زیتون) دیده می شود.

با توجه به بهبود آسیب ناشی از تراکلریدکربن توسط مخلوط هیدروالکلی عصاره ها، می توان پیشنهاد نمود که مخلوط عصاره هسته انگور و جفت به واسطه ترکیبات آنتی اکسیدانی، دارای اثرات حفاظت کبدی می باشند. عدم دسترسی به دستگاه های پیشرفته برای بررسی ترکیبات آنتی اکسیدانی و آنالیز فیتوشیمی یکی از محدودیت های اصلی این پژوهش بود.

References:

- Pang S, Xin X, St Pierre MV. Determinants of metabolic disposition. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32: 625-6.
- Lee SJ, Umano K, Shibamoto T, et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food Chem* 2005; 91: 131-7.
- Dormana HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, et al. Characterisation of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem* 2003; 83: 255-62.
- Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56: 317-33.
- Schaffer S, Schmidt-Schillig S, Muller WE, et al. Antioxidant properties of mediterranean food plant extract: geographical differences. *J Physiol Pharmacol* 2007; 56: 115- 24.
- Balasundram N, Sundram K, Sammar S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 2006; 68: 191-203.
- Jose M. food toxicology. in : Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK, editors. Food antioxidants, technological, Toxicological and Health Prospective.1st ed. New York: Marcel Dekker Inc; 1996.
- Halvorsen BL, Carlsen MH, Philips KM, et al. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 95-135.
- Hendrich S, Wang GJ, Lin HK, et al. Isoflavone metabolism and bioavailability. In: Papas AM, editor, *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. Boca Raton, FL: CRC press; 1999: p. 211-30.
- Rana Selcuk A, Demiray E, Yilmaz Y. Antioxidant Activity of Grape Seeds Obtained from Molasses (Pekmez) and Winery Production. *Academic Food J* 2011; 9: 39-43.
- El-Adawi H, Abdel Mohsen MA, Youssef D, et al. Study on the Effect of Grape Seed Extract on Hypercholesterolemia: Prevention and Treatment. *Int J Pharm* 2006; 2: 593-600.
- Yilmaz Y, Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends Food Sci Technol* 2004; 15: 422-33.
- Antonia L, Jaime C. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food Chemistry* 2007; 101: 659-66.
- Abd El-Wahab AE, El-Adawi H, Kasem HSH. Towards Understanding the Hepatoprotective effect of grape seeds extract on cholesterol-fed rats. *Aus J Basic Appl Sci* 2008; 2: 412-7.
- Bravo L, Saura-Calixto F. Characterization

- of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *Am J Enol Vitic* 1998; 49: 135-41.
- 16.Xueli Cao. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed countercurrent chromatography. *J chromatogr A* 2003; 1021:117-24.
- 17.Yousefi M, Shahrivar A, Rad SH, et al. Investigation and identificotion of the most important Medical plants in Kohkiloyeh and Boyerahmad, Herb. (Accessed in Oct 17, 2010 at <http://plant.mihanblog.com/post/225>).
- 18.Khosravi A, Behzadi A. Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of *Quercus barantii* on some gram-negative bacteria. *Pak J Med Sci* 2006; 22: 429-32.
- 19.Khennouf S, Gharzouli K, Smain A, et al. Effects of *Quercus ilex* L. and *Punica granatum* L polyphenols against ethanol induced gastric damage in rats. *Pharmazie Janvier* 1999; 54: 75-6.
- 20.Konig M, Scholz E, Hartmann R, et al. Ellagitannins and complex tannins from *Quercus petraea*. bark *J Nat Prod* 1994; 57: 1411-5.
- 21.Rocha-Guzman NE, Gonzalez-Laredo JA, Gallegos-Infante RF, et al. Evaluacion Biologica Del Efecto de Extractos Polifenolicos de *Quercus resinosa* Sobre Celulas Transformadas. In: Tellez-Luis SJG, Bustos V, de la Cru GV, editors. Aprovechamiento Biotecnologico de Productos Agropecuarios. Mexico: Plazay Valdes-UAT; 2007: p.219-37.
- 22.Rivas-Arreola MJ, Rocha-Guzman NE, Gallegos-Infante, et al. Antioxidant activity of oak (*Quercus*) leaves infusions against free radicals and their cardioprotective potential. *Pak J biol Sci* 2010; 13: 573-45.
- 23.Khennouf S, Amira S, Arrar L, et al. Effect of Some Phenolic Compounds and *Quercus* Tannins on Lipid Peroxidation. *World Appl Sci J* 2010; 8: 1144-9.
- 24.Rocha-Guzman NE, Gallegos-Infante JA, Gonzalez-Laredo RF, et al. Antioxidant activity and genotoxic effect on HeLa cells of phytophenolic compounds from infusions of *Quercus resinosa* leaves. *Food Chem* 2009; 115: 1320-5.
- 25.Fath M, Mirzaee A, sadeghi H, et al. Hepatoprotectivity of grape seeds on hepatotoxic rats induced by CCL4 [dissertation]. Yasouj Med Sci Uni., 2009.
- 26.Harborne JB. Phytochemical Methods-A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3rd ed. London, UK: Chapman and Hall; 1998.
- 27.Turner R. Quantal responses and Calculation of LD50. In:Turner R, Hebborn P. Screening Methods in Pharmacology. 2nd ed. New York: Academic Press; 1965: p.61-3.
- 28.Twaij HA, Kery A, Al-Khazraji NK. Some pharmacological, toxicological and phytochemical investigations on *Centaurea phyllocephala*. *J Ethnopharmacol* 1983; 9: 299-314.
- 29.Parola M, Leonarduzzi G, Biasi F, et al. Vitamin E dietary supplementa-tion protects against 4 Ccl induced chronic liver damage and cirrhosis. *Hepatology* 1992; 16: 1014-21.
- 30.Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract:importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 148: 187-97.
- 31.Johnson DE, Kroening C. Mechanism of early carbontetrachloride toxicity in cultured rat hepatocytes. *Pharmacol Toxicol* 1998; 83: 231-9.
- 32.Phol L, George JW. Identification of dichloromethyl carbon as a metabolite of carbon tetrachloride *Biochem. Biophys Res Commun* 1983; 117: 367-71.
- 33.Clawson GA. Mechanism of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathol Immunopathol Res* 1989; 8: 104-12.
- 34.Yilmaza Y, Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends Food Sci Technol* 2004; 15: 422-33.
- 35.Bouhamidi R, Prevost V, Nouvelot A. High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. *C R Acad Sci III* 1998; 321: 31-8.
- 36.Muriel P, Garcipiana T. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *J Appl Toxicol* 1992; 12: 439-42.
- 37.Aghela N, Rashidib I, Mombeina A.

- Hepatoprotective Activity of *Capparis spinosa* Root Bark against CCl₄ Induced Hepatic Damage in Mice. Iranian J Pharm Res 2007; 6: 285-90.
- 38.Panovska TK, Kulevanova S, Gjorgoski I, et al. Hepatoprotective effect of the ethyl acetate extract of *Teucrium polium* L. against carbontetrachloride-induced hepatic injury in rats. Acta Pharm 2007; 57: 241-8.
- 39.Agbor GA, Oben JE, Ngogang JY. Antioxidative activity of *Hibiscus cannabinus* leaf extract. FoodAfrica: Improving Food Systems in sub-Saharan Africa: Responding to a Changing. (Accessed in Oct 17, 2010 at <http://foodafrica.nri.org>).