

## مطالعه هیستوپاتولوژی تاثیر کروسین در پیشگیری از بیماری کبد چرب در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پر چرب

داریوش مهاجری<sup>۱\*</sup>، علی رضایی<sup>۲</sup>، غفور موسوی<sup>۲</sup>، جعفر رحمانی<sup>۲</sup>

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تبریز، ایران  
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران  
\* نویسنده مسئول مکاتبات: mohajeri@iaut.ac.ir  
(دریافت مقاله: ۹۰/۷/۴، پذیرش نهایی: ۹۰/۱۰/۱۰)

### چکیده

بیماری کبد چرب غیر الکلی امروزه به‌عنوان شایع‌ترین بیماری کبد شناخته شده است و احتمال دارد از لحاظ موضوع سلامت به یک معضل عمومی مهم تبدیل شود. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات محافظتی کروسین، در برابر کبد چرب ناشی از رژیم غذایی پرچرب در مدل موش صحرایی می‌باشد. به این منظور، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در گروه‌های آزمایشی متفاوت، توسط رژیم غذایی شاهد، رژیم غذایی صرفاً پرچرب و رژیم غذایی پرچرب به علاوه گاواژ کروسین در دزهای مختلف (۲۵ mg kg<sup>-1</sup>/day، ۵۰ و ۱۰۰) تیمار شدند. در پایان دوره آزمایش، برای ارزیابی هیستوپاتولوژی کبد، هم‌زمان همه موش‌ها با ایجاد جابجایی در مهره‌های گردن به راحتی کشته شدند. نمونه‌های بافتی اخذ شده از کبد تمامی موش‌ها در فرمالین بافری ۱۰ درصد پایدار گردید. از نمونه‌های فوق با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقطع، برش‌های هیستولوژی به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید. سطوح سرمی آمینوترانسفرازها (ALT و AST) جهت ارزیابی آسیب کبد و آلکالین فسفاتاز (ALP) و بیلی‌روبین تام (TB) برای ارزیابی عملکرد صفراوی کبد مورد سنجش قرار گرفت. آلبومین (Alb) و پروتئین تام (TP) نیز برای سنجش عملکرد ساخت‌وساز کبد اندازه‌گیری گردید. آسیب‌شناسی بافتی کبد، حاکی از بروز تغییر چربی در گروه موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب بود. کروسین به صورت وابسته به دز باعث کاهش تجمع چربی در هپاتوسیت‌ها گردید. در موش‌های گروه تغذیه با جیره پرچرب، سطوح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP و TB در مقایسه با گروه شاهد سالم، به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) افزایش و میزان TP و Alb به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) کاهش یافت. دزهای بالا (۱۰۰ mg/kg) و متوسط کروسین (۵۰ mg/kg)، سطوح افزایش یافته سرمی مارکرهای آسیب کبد در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌دار (به ترتیب  $p < 0.01$  و  $p < 0.05$ ) کاهش و مقادیر کاهش یافته TP و Alb در اثر رژیم پرچرب را به‌طور معنی‌دار (به ترتیب  $p < 0.01$  و  $p < 0.05$ ) افزایش دادند. دز پائین کروسین (۲۵ mg/kg) نتوانست تغییر معنی‌داری در پارامترهای مذکور ایجاد کند. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کروسین از بروز کبد چرب در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پرچرب پیشگیری می‌کند.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۵، شماره ۳، پیاپی ۱۹، صفحات: ۱۳۰۴-۱۲۹۵.

کلید واژه‌ها: کبد چرب، جیره غذایی پرچرب، کروسین، موش صحرایی

### مقدمه

بشر بوده که معمولاً با چاقی مفرط، هیپرلیپیدمی و دیابت  
ملیتوس نوع ۲ همراه می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که

کبد چرب غیرالکلی اغلب هم‌موقع با کبد چرب کبدی است  
بچ‌ت‌اح - غلغ‌لفء) به عنوان معضلی جهانی، گریبانگیر

های آماسی، اختلالات عملکردی میتوکندری‌ها و استرس اکسیداتیو خواهد شد که خود منجر به استئاتوهپاتیت و یا فیروز می‌شود (۱۰) و **گلاف مع لاجب** و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو در تبدیل استئاتوز به استئاتوهپاتیت موثر می‌باشد (۵). به هر حال، اگرچه استئاتوز ممکن است به نارسایی کامل کبد منجر شود، لکن درمان مناسب و ایده‌آلی برای آن بنا نشده است (۳). مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی شاخه‌ای از فارماکوتراپی مدرن بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند. اگر چه عوامل دارویی متنوعی برای درمان انواع بیماری‌ها وجود دارد، لکن اغلب بیماران قادر به تحمل اثرات جانبی داروهای شیمیایی نیستند و از سوی دیگر اکثر گیاهان اثرات جانبی بسیار اندکی در روی بیماران به جای می‌گذارند. بدیهی است قبل از آن‌که دارویی جدید وارد عرصه طب شود، لازم است مطالعات متعددی در چندین مرحله روی دارو انجام شود. در اولین مرحله، دارو در محیط‌های بی‌جان (*in vitro*) و نیز روی حیوانات زنده (*in vivo*) بررسی می‌شود که در این مرحله ویژگی‌های کلی را روی مورد مطالعه بعد از این مرحله است که دارو روی انسان آزمایش می‌شود. کروسین **کف عگ لاب** به عنوان یک کاروتنوئید گلیکوزیده هیپوتری گلیسریدمیک و هیپو کلسترولمیک قوی می‌باشد (۱۶). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که کروسین دارای اثرات فارماکولوژیک متعدد از جمله اثرات محافظتی علیه بیماری‌های قلبی-عروقی (۱۶، ۳۰ و ۳۵)، جلوگیری از پرولیفراسیون سلول‌های توموری (۲۴)، محافظت از سیستم عصبی (۱ و ۲۶) و محافظت از هپاتوسیت‌ها (۳۲) را نیز دارا می‌باشد. در هر صورت، در بین مکانیسم‌های محافظتی مختلف، فعالیت آنتی-اکسیدانی کروسین مسئول اثرات فارماکولوژیکی آن قلمداد شده است (۲۴).

تغذیه با جیره پرچرب منجر به استئاتوز کبد می‌گردد (۴). تری-گلیسرید و کلسترول، لیپیدهای بیولوژیک مهمی هستند که دریافت بیش از حد آنها از طریق جیره غذایی منجر به هیپوتری گلیسریدمی (۱۷ و ۱۹) و هیپرکلسترولمی (۳۳) می-گردد. کبد چرب غیرالکلی با تجمع تری گلیسریدها در هپاتوسیت‌ها 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 تری گلیسرید) در بافت چربی، رژیم غذایی پر چرب و لیپوژنز **مبلد لغ کغ غگ گف غقن گ کغ ع** سرچشمه می‌گیرد (۲۸). در مقابل، اسیدهای چرب ممکن است از طریق بتا-اکسیداسیون **م ع ف و گ -β**، استریفیکاسیون مجدد به تری گلیسریدها و ذخیره به شکل قطرات چربی، یا دفع به صورت **چ چ ژ (م ف ا ک ع غ ذگ ق ه لا غ ن ک ف م گ لا ک گ ف ق)** مصرف شوند. بنابراین، تجمع چربی در کبد می‌تواند در اثر افزایش سنتز چربی، کاهش دفع چربی و یا کاهش اکسیداسیون آن به وقوع بپیوندد. **ه ق ق غ ک ک گ پ** و همکارانش در سال ۲۰۰۵ نشان داده‌اند که ۶۰٪ محتوای **ت ر ق ف غ گ لا ق ع ع ف غ گ ق ک ع ک ل ا ع غ گ** مورد بررسی قرار می‌دهند. گلیسرید کبد از اینفلاکس اسیدهای چرب از بافت چربی، ۲۶٪ از لیپوژنز مجدد، و ۱۵٪ از جیره غذایی منشأ می‌گیرد (۱۳) کبد چرب غیر الکلی با یکسری تغییرات هیستوپاتولوژیک که از **ع ف گ ک غ م گ ل ا ع ع م ع ق ه ل ا گ ع ه ق غ** ماده‌ای است که دارای اثرات استئاتوز تا سیروز متفاوت است، همراه می‌باشد (۳، ۹، ۱۲ و ۱۵). سابقاً عقیده بر این بود که استئاتوز پدیده‌ای ساده بوده و بدون عوارض می‌باشد. لکن، امروزه مشخص شده است که کبد چرب به عواملی همچون استرس‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیر بوده و می‌تواند به استئاتوم **ف ی م ع ا غ غ گ م ع غ م ذ** که با نکروز، آماس، فیروز و سیروز مشخص می‌شود، منجر گردد (۱۸ و ۲۷). در پاتوژنز استئاتوهپاتیت غیر الکلی **ک گ ک ل ف م ف ل ا ج ا غ غ گ م ع غ م ا ع ف ق گ غ گ ع ق ع** فرض بر این است که تجمع تری گلیسرید در کبد یا استئاتوز باعث افزایش حساسیت کبد به آسیب‌های ناشی از سیتوکائین‌ها یا لیپوکائین-

در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بود. مراحل مختلف مطالعه به صورت دوسو بی‌خبر انجام شد.

#### الف- طرح آزمایش:

در گروه‌های تغذیه با جیره پر چرب، برای ایجاد استئاتوز کبد، از امولسیون پرچرب طبق روش ارائه شده توسط **مگ‌گ‌ن** و همکاران در سال ۲۰۰۶ استفاده شد که شامل ۴۰۰ گرم روغن ذرت، ۱۵۰ گرم ساکاروز، ۸۰ گرم پودر کامل شیر، ۱۰۰ گرم کلسترول، ۱۰ گرم سدیم دی‌اکسی‌کولات ۳۶/۴ گرم توئین ۸۰، ۳۱/۱ گرم پروپیلن گلیکول، ۲/۵ گرم مولتی ویتامین، ۱۰ گرم نمک، ۱/۵ گرم مواد معدنی مخلوط و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود (۳۶). به طور خلاصه، موش‌های گروه‌های ۲ تا ۶، امولسیون پرچرب را به میزان **غق/قک** ۱۰، روزانه راس ساعت ۸ صبح به مدت ۴ هفته از طریق گاوژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های گروه شاهد نیز به همان میزان **غق/قک** ۱۰ نرمال سالیان گاوژ شد. گروه‌های تیمار با کروسین (گروه‌های ۴ تا ۶) نیز کروسین را به میزان **ع/غق/غک** ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ و گروه کنترل مثبت، کلوفیبرات را به میزان **ع/غق/غک** ۳۲۰ (۳۱) از طریق گاوژ به صورت سوسپانسیون در متیل سلولز ۰/۵٪ **غق/قک** (۲) دریافت کردند. به موش‌های گروه شاهد نیز به همان میزان **غق/قک** (۲) متیل سلولز ۰/۵٪ گاوژ گردید.

#### ب) سنجش پارامترهای بیوشیمیایی سرم

در پایان دوره آزمایش جهت اندازه‌گیری برخی فاکتورهای بیوشیمیایی شامل آلانین آمینو ترانسفراز (**ع/کف/عق** - **ع/کف/عق** - **ع/کف/عق**)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (**ع/ع/کف** - **ع/ع/کف**)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (**ع/ع/کف** - **ع/ع/کف**)، آلکالین فسفاتاز (**ع/ع/کف** - **ع/ع/کف**)، آلومین کف مع **ع/ع/کف** و پروتئین تام **ع/ع/کف** و **ع/ع/کف**

با توجه به اثرات هیپولیپیدمیک و آنتی‌اکسیدانی کروسین (۳۱)، این ماده احتمالاً توانایی آن را خواهد داشت که بتواند کبد را از ابتلاء به استئاتوز و در پی آن آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسایشی محافظت کند. در هر صورت با توجه به بررسی منابع، مطالعه‌ای در رابطه با اثرات پیشگیری‌کنندگی کروسین از ابتلاء به استئاتوز کبد در موارد تغذیه با جیره پر چرب وجود ندارد. بنابراین، تحقیق حاضر برای اولین بار جهت ارزیابی اثرات پیشگیری‌کنندگی کروسین از استئاتوز کبد در موش‌های صحرائی تغذیه شده با جیره پر چرب اجرا گردیده است. به هر حال، با انجام این مطالعه خاصیت دارویی کروسین در پیشگیری از بروز عارضه کبد چرب در مواقع تغذیه با جیره پر چرب برای اولین بار مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که در صورت تأیید می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس با خاصیت هیپولیپیدمیک و آنتی‌اکسیدانی جهت پیشگیری از استئاتوز و عوارض وخیم ناشی از آن مورد استفاده قرار گیرد.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۰ در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انجام گردید. جامعه آماری این مطالعه شامل موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰ **ع/ع/کف** گرم و سن ۹ هفته بود. نمونه‌ای به حجم ۶۰ سر موش صحرائی از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تهیه و به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی شامل: ۱- گروه شاهد سالم ۲- گروه تغذیه با جیره پر چرب ۳- گروه تغذیه با جیره پر چرب + کلوفیبرات **ع/ع/کف** (به عنوان کنترل مثبت)، ۴ تا ۶- گروه‌های تغذیه با جیره پر چرب + کروسین (**ع/ع/کف** - **ع/ع/کف**) ۵۰ و ۱۰۰) تقسیم گردید. موش‌ها برای سازگاری با محیط جدید، قبل از آغاز مطالعه به مدت یک هفته در قفس‌های فایبرگلاس مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای **ع/ع/کف** ۲۳ و دسترسی آزاد به مقادیر دلخواه آب و غذای پودر شده استاندارد نگه‌داری شدند.

**کف غم گ لاگ**، (۲۳) و بیلی روبین کف تاج **ه لاف ق ق ق هم گ م بر** (

(۲۵)، نمونه خون ناشتا از سینوس پشت کره چشم **گ لام غ لا** **لموغ ف د ق ق م ف ع لاگ**) اخذ گردید. سرم نمونه های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد جدا شد. جهت سنجش پارامترهای مذکور از کیت های تجاری موجود **ع ک ف غ ب ع ک ف ف غ ب ل م ف ق ل ف ل ه ق ق ع ک ف ع ل ا غ ک ک گ ب**) استفاده شد.

### ج- هیستوپاتولوژی کبد:

آسیب شناسی بافتی کبد موش های مورد آزمایش با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (**پ ۸ و ث**) انجام شد. قسمتی از بافت کبد موش ها در فرمالین بافری ۱۰ درصد پایدار شد و از نمونه های پایدار شده با استفاده از شیوه های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع هیستولوژی، برش هایی با ضخامت ۵ میکرون و رنگ آمیزی معمول هماتوکسیلین-ائوزین تهیه شد (۲۲). تغییرات هیستوپاتولوژی کبد به صورت تغییر چربی **غ ک ع غ ب م م ع غ**) هپاتوسیت ها بر اساس شدت ضایعه طبق روش (۶ و ۳۴)، از صفر تا ۴ (صفر: بدون استئاتوز، ۱: کمتر از ۲۵٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند، ۲: بین ۲۶ تا ۵۰٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند، ۳: بین ۵۱ تا ۷۵٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند و ۴: بیش از ۷۶٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند.) رتبه بندی گردید کلیه درجه بندی ها با بزرگنمایی  $\times 100$  و در ۵ میدان میکروسکوپی از هر برش، به طور تصادفی با میکروسکوپ نوری **م ل ک ق ف ح** ( **۲۰۰ پ ذ خ ث ج پ** ساخت کشور ژاپن) انجام شد.

### د) تحلیل آماری داده ها

برای تحلیل داده ها از بسته نرم افزاری **۱۳- ذ ذ خ ذ** استفاده شد. داده های به دست آمده کمی، به صورت میانگین **ج ح** انحراف استاندارد (**ج ذ ج ک ع غ ک**) ارائه و اختلاف معنی دار بین گروه ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (**ا ذ ح ا**) و آزمون تعقیبی توکی (**ه غ م ر**) مورد بررسی

قرار گرفت. آزمون ناپارامتری کروسکال والیس (**غ غ ر م ل غ م ل ف ق ق ع س- ق ع ق ل م ل ا ج**) و آزمون تعقیبی یو مان- ویتنی (**م ل غ ر ف و غ ک م ف غ س- ک ک ع ج**) نیز برای آنالیز درجات هیستوپاتولوژیک استئاتوز کبد مورد استفاده قرار گرفت. اختلافات در سطح  $0.05$  معنی دار تلقی شدند. از آزمون آماری کلموگروffen **گ س ک ل ا ف ک ذ- ن گ ل ا غ ک ق گ ج**) که یکی از آزمون های نیکویی برازش است، نیز برای تعیین نرمال بودن توزیع پراکندگی داده ها استفاده شد.

### یافته ها

**الف- تاثیر کروسین بر تغییر پارامترهای بیوشیمیایی آسیب کبد ناشی از تغذیه با رژیم پرچرب**

در موش های گروه ۲ (گروه تغذیه با جیره پر چرب)، سطوح سرمی آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (**ر چ ا**)، اسپاراتات آمینوترانسفراز (**ر ذ ا**) و آلکالین فسفاتاز (**خ چ ا**) و بیلی روبین تام سرم (**ب ر**) در مقایسه با گروه ۱ (شاهد سالم)، به طور معنی داری ( $p < 0.01$ ) افزایش و میزان پروتئین تام (**خ ر**) و آلومین سرم (**ع ق ا**) به طور معنی داری ( $p < 0.01$ ) کاهش یافت. در گروه ۳ (شاهد مثبت)، کلوپیرات **غ ق / غ ک** (۳۲۰) و در گروه ۶، دز بالای کروسین **غ ق / غ ک** (۱۰۰)، سطوح افزایش یافته سرمی آنزیم های **ر چ ا**، **ر ذ ا** و **خ چ ا** و بیلی روبین تام سرم در اثر رژیم پرچرب را به طور معنی دار ( $p < 0.01$ ) و تا حد طبیعی کاهش و مقادیر کاهش یافته پروتئین تام و آلومین سرم در اثر رژیم پرچرب را به طور معنی دار ( $p < 0.01$ ) و تا سطوح طبیعی خود افزایش دادند. در گروه ۵ نیز دز متوسط کروسین (**ا ع ق غ ک** ۵۰) مقادیر افزایش یافته آنزیم های مارکر و بیلی روبین تام سرم در اثر رژیم پرچرب را به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) کاهش و مقادیر کاهش یافته پروتئین تام و آلومین سرم را به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) افزایش داد، هرچند که این مقادیر به حد طبیعی خود نرسیدند. در گروه ۴، دز پائین کروسین (**ا ع ق غ ک** ۲۵) نتوانست مقادیر افزایش یافته آنزیم های مارکر و بیلی روبین تام سرم در اثر رژیم پرچرب را

به طور معنی داری کاهش و مقادیر کاهش یافته پروتئین تام و آلومین سرم را به طور معنی داری افزایش دهد (جدول ۱).

جدول ۱- تاثیر کروسین بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم موش های صحرایی در استئاتوز کبد ناشی از رژیم غذایی پرچرب

پارامترها						گروه ها
پروتئین تام سرم (ق/ع) (گ/ع)	آلومین (ق/ع) (گ/ع)	بیلی روبین تام سرم (ق/ع) (گ/ع)	آلکالین فسفاتاز (ج/ز) (ژ/ز)	آسپاراتات آمینو ترانسفراز (ج/ز)	آلانین آمینو ترانسفراز (ج/ز)	
۸/۲۸ ج/۵۸ ع	۴/۳۸ ج/۴۲ ع	۰/۸۱ ج/۰/۳ ع	۱۹۴/۸۷ ج/۰/۳ ع	۶۸/۹۰ ج/۷۱ ع	۵۴/۸۲ ج/۳۶ ع	شاهد سالم
۵/۵۶ ج/۴۵ ع	۳/۱۲ ج/۲۱ ع	۱/۲۹ ج/۰/۷ ع	۲۸۱/۶۷ ج/۱/۲۵ ع	۹۳/۲۱ ج/۹۶ ع	۷۱/۲۵ ج/۱۲ ع	رژیم غذایی پر چرب
۷/۲۶ ج/۴۷ ع	۴/۳۲ ج/۳۶ ع	۰/۸۷ ج/۰/۶ ع	۲۰۸/۹۲ ج/۰/۹ ع	۶۸/۲۱ ج/۳۴ ع	۵۵/۹۰ ج/۴۷ ع	رژیم غذایی پرچرب + کلوفیبرات (۳۲۰ مق/مق)
۵/۶۵ ج/۴۲ ع	۳/۳۳ ج/۲۷ ع	۱/۲۵ ج/۰/۶ ع	۲۷۵/۶۱ ج/۰/۶۵ ع	۸۹/۷۶ ج/۲۴ ع	۶۹/۵۵ ج/۳۲ ع	رژیم غذایی پرچرب + کروسین (۲۵ مق/مق)
۶/۱۶ ج/۴۳ ع	۳/۷۳ ج/۲۹ ع	۱/۰۶ ج/۰/۵ ع	۲۳۵/۶۲ ج/۰/۹۱ ع	۷۸/۳۰ ج/۶۱ ع	۶۲/۵۶ ج/۹۵ ع	رژیم غذایی پرچرب + کروسین (۵۰ مق/مق)
۷/۲۱ ج/۵۲ ع	۴/۳۱ ج/۳۲ ع	۰/۸۵ ج/۴۰ ع	۲۱۴/۸۸ ج/۰/۵۰ ع	۶۹/۹۱ ج/۱۵ ع	۵۶/۳۰ ج/۶۴ ع	رژیم غذایی پرچرب + کروسین (۱۰۰ مق/مق)
$p=0/000$	$p=0/000$	$p=0/000$	$p=0/000$	$p=0/000$	$p=0/000$	آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ا.ح.ا)

مقادیر به صورت میانگین ج انحراف استاندارد (چ.ع.ع.ع.ع.ع) برای ۱۰ سر موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است. ع: اختلاف معنی دار با گروه ۱، ج: اختلاف معنی دار با گروه ۲، ح: اختلاف معنی دار با گروه ۳، ع: اختلاف معنی دار با گروه ۴، غ: اختلاف معنی دار با گروه ۵، ق: اختلاف معنی دار با گروه ۶ (۰/۰۵/گ).

استئاتوز شدید بافت کبد به صورت تغییر چربی میکروویکر و گاهاً ماکروویکولر همراه با تورم هپاتوسیت ها ایجاد شده بود (تصویر ۲). کلوفیبرات در موش های گروه ۳ که جیره پرچرب دریافت می کردند، مانع از استئاتوز کبد شده بود (تصویر ۳). در گروه های ۵ و ۶ تجویز کروسین مق/مق (۱۰۰ و ۵۰) به صورت وابسته به دز از بروز تغییر چربی در هپاتوسیت ها

ب- هیستوپاتولوژی تاثیر کروسین بر آسیب بافت کبد ناشی از رژیم پرچرب در مطالعات ریزبینی، هیچگونه حالت غیر طبیعی در بافت کبد موش های گروه شاهد سالم (گروه ۱) مشاهده نشد (تصویر ۱). در حالی که، در موش های گروه ۲ که به مدت ۴ هفته فقط با جیره پرچرب تغذیه شده بودند،

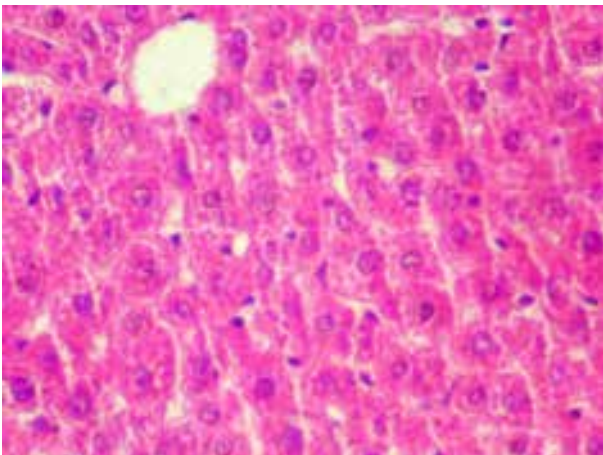
پیشگیری کرد، به خصوص با **دزبغ/بک ۱۰۰** که تقریباً به طور کامل مانع از بروز استئاتوز در کبد شد (تصاویر ۴ و ۵)، در حالی که در گروه ۴، کروسین با **دزبغ/بک ۲۵** نتوانست به طور مشخصی از استئاتوز بافت کبد جلوگیری کند (تصویر ۶). تاثیر کروسین بر درجه بندی پاتولوژیک استئاتوز کبد در موش-های تغذیه شده با رژیم پرچرب در جدول ۲ آورده شده است. جدول ۲- تاثیر کروسین بر استئاتوز بافت کبد موش های صحرائی تغذیه

شده با رژیم غذایی پرچرب

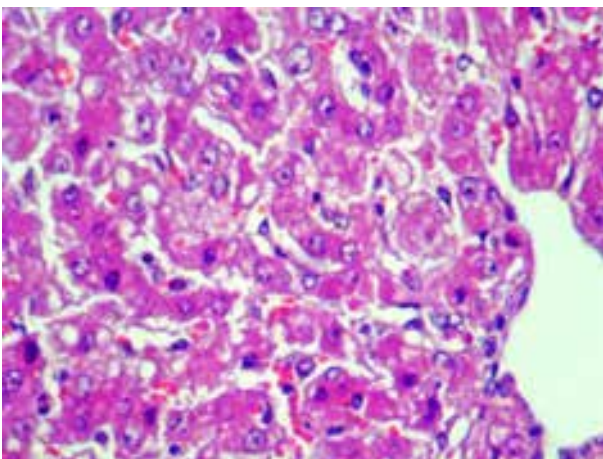
P	درجه استئاتوز کبد	گروه ها
		شاهد سالم
P $\leq$ ۰/۰۰۱	ج ۰/۰۰	رژیم پرچرب
	ج ۲/۹۷	رژیم پرچرب + کلوفیبرات
	ج ۰/۷۴	رژیم پرچرب + کروسین (بک ۲۵)
	ج ۲/۶۵	رژیم پرچرب + کروسین (بک ۵۰)
	ج ۱/۸۴	رژیم پرچرب + کروسین (بک ۱۰۰)

هر گروه شامل ۱۰ سر موش صحرائی بوده و ارقام نشان دهنده تعداد موش-ها برای هر درجه از شدت استئاتوز می باشد.

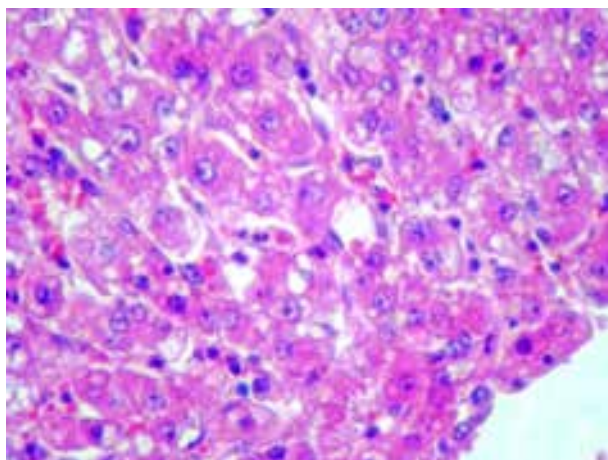
ع: ۰/۰۵؛ ج: ۰/۰۱؛ گ: در مقایسه با گروه رژیم پرچرب. ج ۰/۰۵؛ گ و ج ۰/۰۱؛ گ: در مقایسه با گروه شاهد سالم.



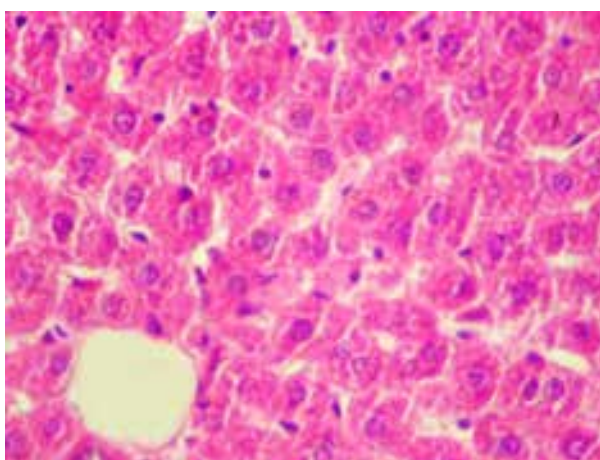
نگاره ۱- نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به گروه شاهد سالم. هپاتوسیت ها و ساختار بافت کبد طبیعی می باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، درشتنمایی ۴۰۰).



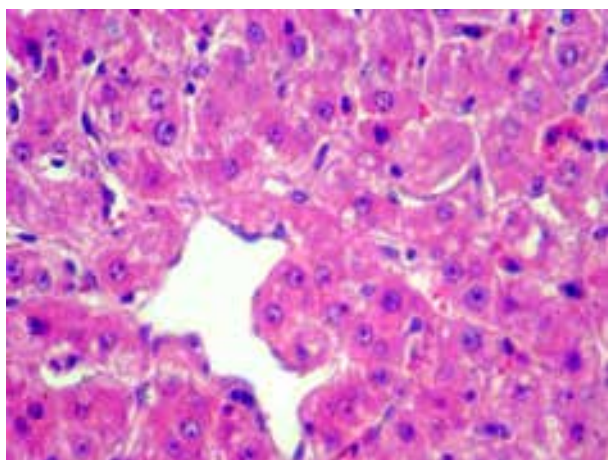
نگاره ۲- نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به گروه تغذیه با رژیم پرچرب. تغییر چربی با تشکیل میکرووزیکول ها و ماکرووزیکول ها درون سیتوپلاسم هپاتوسیت ها مشخص می باشد (رنگ-آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، درشتنمایی ۴۰۰).



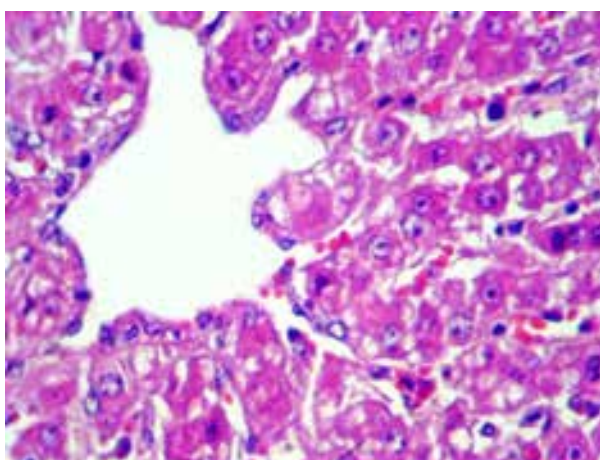
**نگاره ۵-** نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به گروه رژیم پر چرب + کروسین **عق/عک** (۵۰). تغییر چربی در حد متوسط بوده و قطرات ریز چربی به صورت پراکنده قابل مشاهده می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ۴۰۰).



**نگاره ۳-** نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به گروه رژیم پر چرب + کلوفیبرات **عق/عک** (۳۲۰). بافت کبد طبیعی بوده و تغییر پاتولوژیک خاصی در آن مشاهده نمی‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ۴۰۰).



**نگاره ۶-** نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به گروه رژیم پر چرب + کروسین **عق/عک** (۱۰۰). تغییر چربی در حد بسیار جزئی بوده و قابل چشم‌پوشی می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ۴۰۰).



**نگاره ۴-** نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به گروه رژیم پر چرب + کروسین **عق/عک** (۲۵). وزیکول‌های ریز و درشت چربی به طور منتشر در بافت کبد مشاهده می‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشتنمایی ۴۰۰).

## بحث و نتیجه گیری

افزایش فعالیت آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد شامل **ردا، رچا و خچا** در سرم نشانگر آسیب کبد می‌باشد (۸). از آنجائی‌که تغییر در میزان سرمی مارکرهای فوق طی استئاتوز کبد نیز قبلاً گزارش گردیده است (۲ و ۳۴)، بنابراین، در بررسی حاضر سطوح سرمی این آنزیم‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. افزایش فعالیت سرمی آنزیم‌های **ردا، رچا و خچا** در سرم موش‌های مورد تغذیه با جیره پرچرب مشاهده شد که حکایت از بروز آسیب در سلول‌های کبدی را دارد. این یافته با **نغ، کج، لاع، کع، عف، غبج، کع، لام، ع ق، کغز** در سال ۲۰۱۰ همخوانی دارد (۸). تیمار با کروسین تا حد قابل توجهی از افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های مذکور، ناشی از تغذیه با جیره پرچرب، جلوگیری کرد که این تاثیر با عملکرد کلو فیبرات در گروه کنترل مثبت، قابل مقایسه می‌باشد. این نتیجه با یافته‌های **هغوغ، لاع، چ-قپ** و همکاران در سال ۲۰۰۹ که اثرات محافظتی کروسین را در برابر افزایش سیستمیک بار آهن در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار داده بودند، همراستا است (۱۴). در این مطالعه، نتایج بیوشیمیایی به دست آمده با یافته‌های هیستوپاتولوژی نیز مورد تأیید قرار گرفت، به طوری که موش‌هایی که به مدت ۴ هفته با جیره پرچرب تغذیه شده بودند، درجات بالایی از استئاتوز کبد را بروز دادند. در هر صورت، ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی اثرات ضد هپاتواستئاتوزی کروسین را در موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب نشان داد به طوری که، کروسین به خصوص با **دز غق/غک ۱۰۰** مانع از رسوب چربی در هپاتوسیت‌ها شده بود. مشاهدات ریزینی در توافق با یافته‌های بیوشیمیایی، با نتایج مطالعه **غکع، س** و همکارانش در سال ۲۰۰۹ همسو می‌باشد (۳۴). 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 باعث پیشرفت استئاتوز به سمت

استئاتوهپاتیت، فیروز و سیروز می‌شود (۲۱). با توجه به ارتباط بین استرس اکسیداتیو و التهاب بافت (۸)، بررسی حاضر تأیید می‌کند که رژیم غذایی پرچرب می‌تواند باعث آسیب اکسیداتیو کبد شود. عدم تعادل بین استرس اکسیداتیو و تشکیل آنتی-اکسیدان‌ها می‌تواند متعاقب تغذیه با جیره پرچرب بروز نماید و اینکه کروسین می‌تواند از این روند پاتولوژیک پیشگیری کند، اثرات درمانی و پیشگیری‌کنندگی آنرا از هپاتواستئاتوز ناشی از جیره پرچرب نشان می‌دهد. نتایج آزمایشات بیوشیمیایی مطالعه حاضر، در کنار یافته‌های هیستوپاتولوژی، نشان می‌دهد که تیمار با کروسین استئاتوز کبد را کاهش داده و مانع از آسیب پراکسیداتیو آن می‌گردد به طوری که، این اثرات با اثرات کلو فیبرات قابل قیاس می‌باشد. این نتایج با یافته‌های مطالعات **مگش** و همکاران در سال ۲۰۰۶ همراستا می‌باشد (۳۶). 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 (۷). هیپرکلسترولمی، هیپرتری‌گلیسریدمی، میزان کم **ب-چ، پت** و سطوح بالای **ب-چ، پچ** در سرم اختلالات معمولی هستند که در هومئوستاز لیپیدی مبتلایان به استئاتوز کبد رخ می‌دهد (۳). تحقیقات نشان داده است که کروسین دارای اثرات هیپولیپیدمیک می‌باشد (۳۱). در این مطالعه، کروسین به طور معنی‌داری شواهد بیوشیمیایی و هیستولوژیک مربوط به تجمع چربی در بافت کبد را بهبود بخشید این نتایج نشان می‌دهند که کروسین می‌تواند از وقوع هپاتواستئاتوز از طریق کاهش تجمع لیپیدها در سرم و کبد ممانعت کند. به عبارتی دیگر کروسین اختلالات ایجاد شده در متابولیسم چربی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را کاهش می‌دهد. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که کروسین به عنوان یک کاروتنوئید گلیکوزیده که نقش خود را از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌دارد، از تجمع چربی در بافت کبد در رژیم غذایی پرچرب جلوگیری



کرده و این تغییرات با کاهش مارکرهای سرمی آسیب کبد همراه می باشد.
سپاسگذاری: این طرح پژوهشی با اعتبارات مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه صمیمانه قدردانی می گردد.

منابع

۱. ... 805-813. (۳۸۵) کف فم ...
۲. ... p. 1221-1231. (۲۰۰۲) ...
۳. ... (۲۰۰۲), pp. 186-190. ...
۴. ... (۲۰۰۰), pp. 1929-1934. ...
۵. ... (۲۰۰۲), pp. 539-550. ...
۶. ... (۲۰۰۲), pp. 246-258. ...
۷. ... (۲۰۰۲), pp. 1649-1657. ...
۸. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۹. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۰. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۱. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۲. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۳. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۴. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۵. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۶. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۷. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۸. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۱۹. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۲۰. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۲۱. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۲۲. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...
۲۳. ... (۲۰۰۲), pp. 1151-1154. ...

