ORIGINAL ARTICLE

Antioxidant Activity and the Lowering Effect of Hydroalcoholic Extract of Allium hirtifolium Boisson Some Haemostatic Factors in Hypercholesterolemic Rabbits

Sedigheh Asgari[1],
Roya Ansari Samani[2],
Fatemeh Deris[2],
Najmeh Shahinfard[2],
Maryam Salimi[2],
Seifollah Mortazaei[2],
Samira Asgharzadeh[2],
Hedayatollah Shirzad[2],
Mahmoud Rafieian-kopaei[2]

[1] Applied Physiology and Cardiovascular Research Centers, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Sharekord, Iran

(Received February 22, 2011 ; Accepted July 11, 2012)

Abstract

Background and purpose: Hypercholesterolemia and the activity of haemostatic factors may trigger cardiovascular diseases. *Allium hirtifolium* Boiss (Persian shallot) has been shown to have cardioprotective effects. This study evaluated the effects of *A. hirtifolium*on on factor VII and serum fibrinogen levels in hypercholesterolemic rabbits. Also, the antioxidant capacity of *A. hirtifolium* was measured.

Materials and methods: In an experimental study, 24 NewZealand male rabbits were randomly assigned into three groups of eight. The groups' diet which was followed for 60 days included normal diet, hypercholestrol diet (1%) or hypercholestrol diet (1%) + *A. hirtifolium*. The blood fibrinogen and factor VII were measured pre and post study in all groups. The *A. hirtifolium* antioxidant capacity was measured using beta-carotene linoleate.

Results: The study showed that serum fibrinogen level and factor VII increased significantly in hypercholesterolemic group (329.22 ± 26.7 and 277.7 ± 17.1 mg/dl) compared to normal diet group (287.25 ± 13.7 and 230.0 ± 18.2 mg/dl), respectively ($P<0.05$). The amount of serum fibrinogen and factor VII decreased in hypercholesterol+*A. hirtifolium* group (180.0 ± 23.9 and 237.0 ± 53.3 mg/dl) compared to hypercholesterol diet group ($P<0.05$). The antioxidant capacity of *A. hirtifolium* extract was 52.1 ± 3.3% in 0.2 g/L. The plasma antioxidant capacity in the group fed with hypercholesterol + *A. hirtifolium* was 943.907 ± 249.51 µM which was higher compared to that of the normal diet group (629.675 ± 130.73 µM).

Conclusion: *A. hirtifolium* decreases serum fibrinogen level and factor VII, therefore, it might be helpful in reducing risk factors of cardiovascular diseases. These influences are of great importance in patients with haemostatic disorders.

Keywords: Rabbit, fibrinogen, factor 7, hypercholesterolemia, *Allium hirtifolium* Boiss

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(91): 40-48 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۱ مرداد سال ۱۳۹۱ (۴۸-۴۰)

ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی و کاهندگی برخی فاکتورهای انعقادی عصاره هیدروالکلی موسیر در خرگوش های هایپرکلسترولمیک

صدیقه عسگری[۱]
رویا انصاری سامانی[۲]
فاطمه دریس[۲]
نجمه شاهین فرد[۲]
مریم سلیمی[۲]
سیف اله مرتضایی[۲]
سمیرا اصغرزاده[۲]
هدایت ا... شیرزاد[۲]
محمود رفیعیان کوپائی[۲]

چکیده

سابقه و هدف: بالا بودن سطح سرمی و فعالیت فاکتورهای انعقادی از ریسک فاکتورهای مهم در بروز بیماری‌های قلبی- عروقی به شمار می‌رود. برخی از گزارشات حاکی از اثر حفاظتی موسیر برسیستم قلب وعروق می‌باشند. لذا در این مطالعه ضمن اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موسیر، اثر آن بر میزان فیبرینوژن و فاکتور VII در خرگوش‌های مصرف‌کننده کلسترول بالا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه مداخله‌ای تعداد ۲۴ سر خرگوش نر به طور تصادفی به سه گروه آزمایشی هشت تایی تقسیم شدند. طی یک دوره ۶۰ روزه، گروه اول غذای معمولی، گروه دوم غذای پر کلسترول (۱ درصد)، گروه سوم غذای پر کلسترول به همراه موسیر (۱ g/kg BW) دریافت نمودند. میزان فاکتور VII و فیبرینوژن سرم در زمان قبل از شروع آزمایش و بعد از پایان ماه دوم تعیین و در گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شدند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موسیر نیز با روش مدل بتاکاروتن لینولئات اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: پس از دو ماه مصرف رژیم‌های خاص، میزان فیبرینوژن و فاکتور VII در گروه پرکلسترول به ترتیب ۲۶/۷ mg/dl ± ۳۲۹/۲۲ و ۱۷/۱ ± ۲۷۷/۷ بود که نسبت به رژیم پایه (به ترتیب ۱۳/۷ mg/dl ± ۲۸۷/۲۵ و ۱۸/۲ ± ۲۳۰/۰) افزایش معنی‌داری پیدا کرده بودند (p< ۰/۰۵). این دو فاکتور در گروه پرکلسترول با موسیر به ترتیب ۲۳/۹ mg/dl ± ۱۸۰/۰۰ و ۵۳/۳ ± ۲۳۷/۰ بود که نسبت به رژیم پرکلسترول کاهش معنی‌داری داشتند (p< ۰/۰۵). در این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره موسیر با غلظت ۰/۲ g/L معادل ۳/۳ ± ۵۲/۱ درصد حاصل گردید. همچنین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما در گروه موسیر+ پرکلسترول ۲۴۹/۵۱ µM ± ۹۴۳/۹۰۷ به مراتب بیشتر از گروه پایه (معمولی) ۱۳۰/۷۳ µM ± ۶۲۹/۶۷۵ به دست آمد.

استنتاج: موسیر در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک باعث کاهش فاکتور VII و فیبرینوژن می‌شود و احتمالاً با کاهش عوامل انعقادی می‌تواند اثرات مفیدی در کاهش ریسک فاکتورهای بیماری‌های قلبی- عروقی داشته باشد. در ضمن این اثرات باید در بیمارانی که کم یا زیاد شدن ظرفیت انعقادی آن‌ها حائز اهمیت است، مد نظر قرار گیرد.

واژه های کلیدی: خرگوش، فاکتورهای انعقادی، موسیر، هایپرکلسترولمی

مقدمه

زندگی صنعتی عامل افزایش رخداد بیماری‌های قلبی- عروقی به‌ویژه آترواسکلروز ذکر شده است(۱). در حال حاضر این بیماری‌ها به سرعت در حال گسترش هستند و نخستین عامل مرگ و میر در جوامع صنعتی

مؤلف مسئول: محمود رفیعیان کوپائی- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، رحمتیه E-mail: rafieian@yahoo.com

۱. مراکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ایران

۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

تاریخ دریافت :۹۰/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۱/۲/۲۶ تاریخ تصویب :۹۱/۴/۲۱

شناخته شده‌اند(۲،۱). پژوهش‌های انجام شده در امریکا و اروپا گستره رخداد بیماری‌های قلبی- عروقی را ۳ تا ۸ درصد برآورد کرده‌اند. در ایران آمار دقیقی وجود ندارد ولی براساس بررسی‌های انجام شده به وسیله وزارت بهداشت درمان وآموزش پزشکی ۳۸/۵ درصد موارد مرگ و میر به سبب بیماری عروق کرونر اتفاق می‌افتد(۱). تحقیقات نشان داده‌اند که تعدیل پتانسیل هموستاتیک یا فاکتورهای ترومبوژنیک با ایجاد تغییرات ساده در زندگی می‌تواند به عنوان پیشگیری اولیه یا ثانویه مطرح شود(۳). امروزه فعالیت فاکتورهای VII و فیبرینوژن (فاکتورهای هموستاتیک) به عنوان عوامل خطر دخالت کننده در بیماری‌های قلبی- عروقی شناخته شده اند. در حال حاضر، برای کنترل این عوامل خطر و پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی از روش‌ها و داروهای مختلف از جمله مکمل‌های ویتامین E، اسیدفولیک، ویتامین‌های B6 و B12 و درصورت لزوم داروهای ضدانعقادی استفاده می‌شود(۵،۴). اما با وجود استفاده از این مکمل‌ها به نظر می‌رسد باز هم با مهار کردن فعالیت‌های انعقادی و التهابی می‌توان از بروز آترواسکلروز و پیشرفت سندروم‌های حاد کرونری و ایسکمی‌های مغزی و یا ایسکمی در بافت های دیگر پیشگیری نمود. فاکتور VII یک فاکتور وابسته به ویتامین K می‌باشد که توسط هپاتوسیت‌ها تولید شده، در جریان خون آزاد می‌شود. سطح پلاسمایی بالای این فاکتور با افزایش ریسک ایجاد ترومبوز شریانی در ارتباط است. ۲۵ درصد افزایش فعالیت فاکتور VII به میزان ۵۵ درصد ریسک بیماری عروق کرونر کشنده را بالا می‌برد(۶). همچنین مشخص شده است که میزان آن با میزان تری‌گلیسرید سرم ارتباط دارد و تغذیه با رژیم پرچربی سبب افزایش غلظت لیپوپروتئین‌ها و تری‌گلیسرید شده و لیپولیز ذره‌های بزرگ لیپوپروتئین سبب افزایش فاکتور VII فعال شده می‌گردد(۷). میزان فعالیت فاکتور VII در افرادی که رژیم پرچرب دارند ۱۶ در صد بیشتر از افرادی است که رژیم کم چرب مصرف می‌کنند(۸). فیبرینوژن یک پروتئین با وزن مولکولی بالا است که توسط کبد ساخته می‌شود و میزان طبیعی آن به طور متوسط mg/dl ۲۵۰ می باشد. میزان فیبرینوژن پلاسما در بیماری‌های التهابی، بدخیمی و کبدی افزایش می‌یابد(۹). افزایش فیبرینوژن پلاسما می‌تواند پیش درآمد افزایش تشکیل لخته باشد(۱۰). اگرچه افزایش فیبرینوژن پلاسما همراه با سایر عوامل خطر بیماری عروق کرونر مانند سن، کشیدن سیگار، فشار خون بالا، افزایش چربی‌های خون، دیابت و چاقی دیده می‌شود، اما فیبرینوژن به عنوان یک عامل خطر مستقل نیز در ایجاد بیماری تصلب شرایین نقش دارد(۱۲،۱۱). در واقع اهمیت افزایش فیبرینوژن پلاسما مشابه سایر عوامل خطر اصلی بیماری عروق کرونر مانند افزایش فشار خون و هیپرلیپیدمی می‌باشد(۱۳). فیبرینوژن با تأثیر بر ویسکوزیته پلاسما، تجمع پلاکت‌ها و میزان فیبرینی که تشکیل می‌دهد زمینه ابتلاء به بیماری عروق کرونر را فراهم می‌کند(۱۵،۱۴). چندین مطالعه رابطه بین میزان فیبرینوژن پلاسما و شدت بیماری عروق کرونر را در آنژیوگرافی نشان داده‌اند. اکثر این مطالعات این امر را عمدتاً به علت انسداد لومن رگ می‌دانند که خود نشانه این است که افزایش فیبرینوژن پلاسما یک فاکتور ترومبوژن می‌باشد(۱۶). گزارشات نشان‌دهنده ارتباط بین اجزاء سیستم انعقادی (فیبرینوژن و فاکتور VII) و فاکتورهای فیبرینولیتیک از جمله فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (TPA) و مهارکننده فعال کننده پلاسمینوژن (PAI) و آترواسکلروز است(۱۷).

مطالعات نشان می‌دهند که فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک در گیاهان دارای اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، مهارکننده رادیکال‌های آزاد و اثرات ضد التهابی می‌باشند(۱۸). با توجه به شیوع روزافزون بیماری‌های قلبی و کاهش سن ابتلاء به این بیماری یافتن داروها و گیاهان دارویی که بتوان به طور معمول در رژیم غذایی از آن استفاده نمود و دارای اثرات کنترل کننده و پیشگیری کننده از ایجاد پلاک‌های

آترواسکلروز و نیز کاهش ریسک فاکتورهای بیماری‌های قلبی- عروقی باشد حائز اهمیت است. گیاه موسیر (Allium hirtifolium Boiss) گونه‌ای از خانواده بزرگ لاله سانان است که متشکل از حدود ۵۰۰ گونه مختلف شناخته شده می‌باشد. این خانواده علاوه بر موسیر، گونه‌های مهم و شناخته شده دیگری از قبیل سیر، پیازها و تره فرنگی را در بر می‌گیرد که در سرتاسر جهان، مورد استفاده غذایی و دارویی هستند(۱۹،۲۰). مصرف گیاهان آلیوم از زمان‌های باستان به عنوان داروی سنتی محلی متداول بوده و چنین گیاهانی برای قرن‌ها به خاطر ارزش و خواص دارویی مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این گیاهان غنی از فلاونول‌ها و ترکیبات ارگانوسولفوری هستند و در مطالعات آزمایشگاهی ویژگی‌های ضدسرطانی از خود نشان داده‌اند(۲۱). موسیر گیاهی سنتی شبیه به سیر بوده اما پیازچه‌های آن نسبت به سیر تیره‌تر است و در رژیم غذایی، بیشتر به عنوان چاشنی غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاکنون مطالعات متعددی در مورد خواص و ویژگی‌های موسیر صورت گرفته که از جمله آن‌ها می‌توان به اثرات هیپوکلسترولمی(۲۲)، داشتن فعالیت ممانعت از همولیز و تخلیه گلوتاتیون ناشی از فشار استرس در اریتروسیت انسان(۲۳)، اثر هیپوگلیسمی و هایپوکلسترولمی(۲۴،۲۵)، اثرات ضد باکتریایی(۲۶)، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالا(۲۷) و اثرات هماتولوژیکی(۲۸) اشاره کرد. همچنین، برخی از ترکیبات مؤثر این گیاه مثل پپتید ضد قارچ آسکالین(۲۹) و لکتین اختصاصی مانوز(۳۰) شناسایی و جداسازی شده‌اند. نتایج بررسی‌ها نشان داد که تجویز خوراکی عصاره الکلی موسیر به مدت ۲۰ روز موجب کاهش میزان کلسترول توتال و LDL و افزایش HDL می شود و تجویز این گیاه بر میزان تری گلیسیرید سرم تأثیری ندارد(۳۱). همچنین ثابت شده که تجویز عصاره موسیر در موش‌های صحرایی نر می‌تواند به علت داشتن آنتی‌اکسیدانت موجب کاهش پر اکسیداسیون لیپیدها گردد(۳۱). با توجه به مواد موجود در موسیر و اثرات هیپوکلسترولمیک آن و تأثیر ظرفیت هموستاتیک خون بر آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی- عروقی، در صورتی‌که این گیاه باعث کاهش فاکتورهای هموستاتیک شود، می‌تواند در بیماری‌های قلبی- عروقی بسیار مفید باشد. نظر به این‌که این گیاه به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی مطرح بوده و برخی از گزارشات حاکی از اثر حفاظتی آن‌ها بر سیستم قلب و عروق می‌باشند. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر موسیر بر میزان فیبرینوژن و فاکتور VII در خرگوش‌های مصرف کننده کلسترول بالا بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره

در این آزمایش از گیاه موسیر جمع‌آوری شده از منطقه کوهرنگ استان چهارمحال و بختیاری که به تأیید مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد رسیده بود، استفاده شد و عصاره به دست آمده از آن به صورت داخل صفاقی در خرگوش‌ها استفاده شد. در طول دوره، وزن و غذای مصرفی اندازه‌گیری گردید. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه از روش خیساندن در اتانول ۸۰ درصد استفاده شد. پس از مراحل خشک کردن در سایه و خرد کردن، عمل عصاره‌گیری در حرارت ۲۰- ۱۵ سانتی گراد به کمک اتانول ۸۰ درصد انجام شد. برای این منظور پودر مورد نظر با حلال خیسانده شد. ۱۰۰ گرم پودر گیاه در ۵۰۰ سی‌سی اتانول ۸۰ درصد ریخته شد و بعد از ۴۸ ساعت پس از صاف کردن عصاره، عصاره‌گیری دو مرتبه تکرار و مجموعه عصاره جمع شده گیاه به دستگاه تقطیر در خلاء منتقل و تغلیظ گردید. سپس در حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد(۳۲).

گروه‌بندی و تیمار خرگوش‌ها

در یک بررسی مداخله‌ای ۲۴ سرخرگوش نر سفید نیوزیلندی با وزن ۱۲/۹ ±۲۰۱۰ گرم از انستیتو رازی

کرج خریداری و در لانه حیوانات مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به مدت دو هفته در دما و رطوبت مناسب، ساعت تاریکی و نور طبیعی، رژیم پایه استاندارد نگهداری و سپس تحت تیمار قرار گرفتند. تغذیه خرگوش‌ها با استفاده از مواد غذایی دانه‌ای آماده استاندارد تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس (تهران) شامل ۱۵ درصد پروتئین، ۵۰- ۴۰ درصد کربوهیدرات، ۲ درصد چربی گیاهی و ۱۵ تا ۲۵ درصد فیبر انجام شد. جهت تهیه غذا پس از تأیید علمی، پودر به‌دست آمده پس از آسیاب نمودن کلسترول با نسبت وزنی ۰/۰۱ با غذای پودر شده و استاندارد مخلوط و مجدداً غذای حیوان تولید شد. حیوانات در طول دوره آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. خرگوش‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم و به مدت ۶۰ روز تحت رژیم‌های مختلف به شرح ذیل قرار گرفتند:

رژیم پایه، رژیم پرکلسترول (۱ درصد)، رژیم پرکلسترول (۱ درصد) + عصاره موسیر (1 g/kg BW)(۳۲). در گروه پر کلسترول تنها رژیم پایه، هم حجم عصاره تزریقی سرم فیزیولوژی دریافت نمودند این عمل به منظور یکسان‌سازی و حذف ایجاد شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. عصاره موسیر نیز روزی یک مرتبه (حدود ساعت ۱۱ صبح) به مدت ۶۰ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی

قبل از شروع و پایان مطالعه، خرگوش‌ها برای ۱۲ ساعت در حالت ناشتا قرار گرفته سپس نمونه خون از رگ میانی گوش گرفته شد. خون گرفته شده از خرگوش‌ها در دو لوله جداگانه برای تهیه سرم و پلاسما ریخته شد. جهت اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن حیوانات یک گروه در کنار مطالعه برای اندازه‌گیری کلسترول توتال و لیپوپروتئین‌های مربوطه (HDL, LDL, VLDL) در نمونه خونی آن‌ها قرار گرفت. سنجش سطح کلسترول پلاسما در گروه‌های تیمار انجام شد. تمام لوله‌ها با شماره و تاریخ مشخص و به منظور تهیه سرم و پلاسما با دور ۳۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. میزان فیبرینوژن با استفاده از کیت مهسا یاران و فاکتور VII با استفاده از کیت STA-Deficient VII اندازه‌گیری شد(۱۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی موسیر با روش بتاکاروتن لینولئات

جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش GORINSTEIN وهمکاران استفاده شد. مقدار ۰/۲ میلی‌گرم بتا کاروتن در ۰/۲ میلی لیتر کلروفرم حل گردید. به این امولسیون ۲۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ اضافه شد. مقدار ۴۰ میلی لیتر آب اشباع از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه همراه با تکان شدید) به مواد فوق اضافه گردید. عصاره موسیر با غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر در اتانول خالص تهیه گردید به ۲ میلی لیتر از عصاره تهیه شده و کنترل (اتانول) مقدار ۴ میلی لیتر از محلول آماده شده اضافه گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر اساس میزان رنگ بری بتا کاروتن در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت ۱۸۰ دقیقه (به فاصله هر ۱۵ دقیقه) و با استفاده از فرمول زیر محاسبه و میانگین مقادیر به‌دست آمده به عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در نظر گرفته شد.

فرمول ۱

$AA = 100\,[1-(A_o - A_t)/(A^o_o - A^o_t)]$ که A_o و A^o_o نشان دهنده جذب نوری در زمان صفر و A_t , A^o_t جذب نوری در زمان‌های مختلف طی ۱۸۰ دقیقه برای نمونه و کنترل می باشند(۳۳).

اندازه‌گیری میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما با استفاده از تری پیریدیل تری آذین (TPTZ) (شرکت سیگما، آمریکا) و

بر اساس روش دکتر حیدریان و همکاران اندازه‌گیری شد. احیاء یون فریک به فرو در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها باعث ایجاد کمپلکس رنگی فروتری پیریدیل تری آزین می‌شود که در ۵۹۳ نانومتر دارای حداکثر جذب نوری است. جهت رسم منحنی استاندارد از $FeSO_4$ در محدوده ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومولار استفاده شد. در این روش ابتدا یک محلول کار به نسبت های ۱: ۱: ۱۰ از تری آزین ۱۰ میلی مولار در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار، محلول ۲۰ میلی مولار FeCl 3 (مرک آلمان) و بافر استات ۳۰۰ میلی مولار تهیه شد (محلول بافر ۱۰ حجم و تری آزین FeCl 3 هر کدام ۱ حجم). سپس از پلاسمای هر نمونه ۲۵ میکرولیتر در لوله‌های تمیز ریخته شد و به هر لوله از محلول کار به میزان ۱/۵ میلی‌لیتر اضافه گردید (یک لوله آزمایش هم برای بلانک آماده شد که به‌جای نمونه به آن آب مقطر اضافه گردید). سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و متعاقباً جذب نوری هر نمونه در مقابل بلانک در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت شد(۳۴).

آنالیز آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار Instat 3 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و مقایسه گروه‌های آزمایشی از آزمون کروسکال- والیس و دان استفاده شد ($p<۰/۰۵$)، که از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

نتایج این مطالعه نشان داد که در ابتدای دوره مقدار فاکتورهای بیوشیمیایی در بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). مقایسه میزان فیبرینوژن خون در گروه‌های رژیم پایه (معمولی) و رژیم پرکلسترول (۱ درصد) نشان داد که میزان فیبرینوژن در گروه پرکلسترول نسبت به رژیم پایه افزایش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$).

همچنین در گروه پرکلسترول + موسیر کاهش معنی‌داری نسبت به رژیم پرکلسترول مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). میزان فاکتور VII نیز در گروه پرکلسترول نسبت به رژیم پایه افزایش معنی داری داشت ($p<۰/۰۵$) و در گروه پرکلسترول + موسیر کاهش معنی‌داری نسبت به رژیم پرکلسترول مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۱).

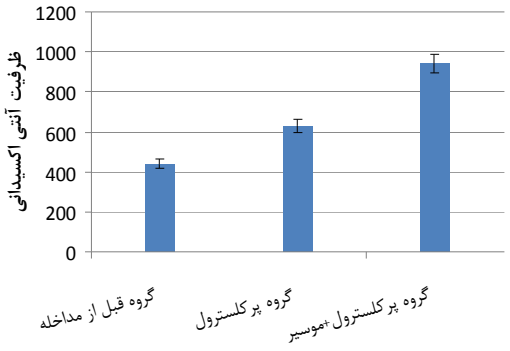
در این مطالعه ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره موسیر با غلظت ۰/۲ g/L معادل ۰/۳ ± ۵۲/۱ درصد به دست آمد همچنین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما گروه موسیر+پرکلسترول ۲۴۹/۵۱ µM± ۹۴۳/۹۰۷ و به مراتب بیشتر از گروه پایه (معمولی) ۱۳۰/۷۳ µM± ۶۲۹/۶۷۵ به‌دست آمد. نتایج نشان داد که بین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گروه موسیر + پرکلسترول (۲۴۹/۵۱ µM ± ۹۴۳/۹۰۷) و ظرفیت آنتی‌اکسیدان نمونه‌های قبل از مداخله (۹۹/۹۹ µM ± ۴۴۰/۰۸۹) ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۰۱$).

جدول شماره ۱: میانگین (mg/dl) میزان فیبرینوژن و فاکتور VII در گروه های رژیمی مورد مطالعه

رژیم	فیبرینوژن±انحراف معیار	فاکتور VII ±انحراف معیار
پایه (معمولی)	۲۸۷/۲۵±۱۳/۷	۲۳۰/۰±۱۸/۲
پرکلسترول (۱ درصد)	۳۲۹/۲۲±۲۶/۷a	۲۷۷/۷±۱۷/۱a
پرکلسترول (۱ درصد) + موسیر	۱۸۰/۰۰±۲۳/۹b	۲۳۷/۰±۵۳/۳b

a: $p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه رژیم پایه

b: $p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه رژیم پرکلسترول



نمودار شماره ۱ : مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه های پلاسما در گروه های مورد آزمایش (میکرومولار)

بحث

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که گروه‌های تیمار شده با موسیر باعث کاهش معنی‌دار در سطح فیبرینوژن و فاکتور VII در مقایسه با گروه پرکلسترول شد. اختلال در فیبرینوژن و انعقاد با پیشرفت بیماری‌های قلبی - عروقی مانند عروق کرونر، هیپرتانسیون و شوک ایسکمیک ارتباط دارد(۳۴).

بعضی رژیم‌های گیاهی در کاهش غلظت فاکتورهای انعقادی یا افزایش فیبرینولیز مؤثرند وبا کاهش لخته شدن خون به وسیله کاهش فیبرینوژن، مهار تجمع پلاکت‌ها وافزایش زمان پروترومبین در این فرایند نقش دارند(۳۵). نتایج بررسی‌ها نشان داده‌اند که تجویز خوراکی عصاره الکلی موسیر به مدت ۲۰ روز موجب کاهش میزان کلسترول توتال LDL و افزایش HDL می‌شود(۲۵). مطالعات HALL درسال ۱۹۹۶ نشان داد که بین میزان HDL و فیبرینوژن ارتباط وجود دارد افرادی که دارای HDL بالا هستند میزان فیبرینوژن پایینی دارند. اثر مهاری HDL بر فاکتور X (فاکتوری که موجب تبدیل پروترومبین به ترومبین شده و ترومبین نیز در نهایت موجب تولید فیبرینوژن می گردد) و باعث فعال کردن پروتین‌های C و S (این پروتئین‌ها باعث مهار فاکتور انعقادی V می‌شوند) شده که این عوامل باعث کاهش تولید فیبرینوژن می‌گردد. همچنین HDL موجب مهار تجمع پلاکت‌ها می‌شود. پس کاهش فیبرینوژن می‌تواند به دلیل افزایش HDL نیز باشد. اثر بر کاهش کلسترول خون، از طریق ممانعت از ساخته شدن HMG-CoA رودوکتاز صورت می‌گیرد. این آنزیم باعث تبدیل هیدروکسی متیل گلوتاریل کوا به اسید موالونیک و احیای آن می‌شود که واکنشی یکطرفه است و در شبکه آندوپلاسمی سلول اتفاق می‌افتد(۳۶). مطالعات نشان داده است که پودر سیر به خاطر وجود آلیسین اثرات آنتی‌ترومبوتیک دارد وسطح کمپلکس ترومبین، آنتی‌ترومبین ۳ تا حد نرمال کاهش یافته است(۳۷).

وجود آلیسین عامل عمده برای اثرات سودمند آن در مقابل چربی خون، فشار خون و انعقاد خون است(۳۶). مشخص شده که مصرف خوراکی و دراز مدت موسیر باعث کاهش رادیکال‌های آزاد، محافظت سلول در برابر آسیب‌های شیمیایی، کاهنده پراکسیداسیون لیپیدی و محافظ کبد در برابر انواع استرس‌ها است که علت اصلی آن سطح بالای مواد آنتی‌اکسیدان می‌باشد(۳۸). به همین علت مصرف این گیاه اثرات حفاظتی بر بافت‌های بدن اعمال نموده در جهت کاهش استرس اکسیداتیو عمل می‌کند(۳۹). فلاونوئیدها مانند کوئرستین، کامپرفرول و میرستین از فلاونوئیدهایی هستند که بازدارنده تجمع پلاکتی می‌باشند. با توجه به این‌که موسیر واجد اثرات دارویی متعددی نظیر خواص آنتی‌اکسیدانی است(۳۹) باعث می‌شود پلی فنل‌ها سریعاً جذب و منجر به افزایش غلظت آن‌ها در خون برای القاء افزایش بیان mRNA و پروتئین‌های فیبرینولیتیک مثل t-PA و تنظیم کاهش PAI گردد(۴۰) که می‌تواند تا حدودی توجیه کننده اثرات ضد التهابی بوده، سبب بهبود پروفایل چربی خون و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در افراد هیپرکلسترولمیک شود(۸). درمان با عوامل آنتی‌اکسیدانت نظیر تره کوهی با مقدار بالا از ترکیبات سولفوکسیدهای سیستینی می‌تواند ازاین نظر مؤثر باشد(۴۱). به علاوه مشخص شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی این گروه از مواد ازطریق افزایش سطح آنزیم‌های مربوط به سیستم آنتی‌اکسیدانت دیس موتاز و کاتالاز به انجام می‌رسد. از طرف دیگر این مواد قادر به کاهش تولید محصولات نهایی پراکسیدان لیپیدی نظیر مالون دی آلدئید وهیدروپراکسید می‌باشند(۴۲). از طرفی دیگر، بخشی ازاثرات مشاهده شده مصرف این گیاه در بررسی حاضر را باید به درصد بالای آنتوسیانین‌ها با خواص محافظت کننده نسبت داد(۴۱). از این رو با مهار کردن فعالیت‌های انعقادی و التهابی پلاکت‌ها احتمالاً می‌توان از بروز آترواسکلروز و

سندروم‌های حاد کرونری و ایسکمی‌های مغزی و یا ایسکمی در بافت‌های دیگر پیشگیری نمود.

می‌توان نتیجه‌گیری کرد با توجه به مصرف موسیر در جوامع امروزی و همین طور اثر آنتی‌اکسیدانی آن نقش پیشگیرانه آن در بروز و گسترش بیماری‌های مزمن مختلف از جمله بیماری قلبی- عروقی، اهمیت بسیاری پیدا می‌کند. علاوه بر این، با توجه به علاقه محققان برای کشف و استفاده از داروها با منشاء طبیعی به علت عوارض جانبی کمتر جهت درمان این‌گونه بیماری‌ها، گیاه موسیر می‌تواند مورد توجه بیشتری قرار گیرد. البته یافتن ترکیب یا ترکیبات احتمالی مؤثر و مکانیسم اثر آن‌ها در بیماری‌های قلبی–عروقی موردی است که نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب و پایان‌نامه دکتری پزشکی عمومی خانم دکتر مریم سلیمی می‌باشد. بدین‌وسیله از آقای علیرضا کریمی و دیگر پرسنل محترم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی به دلیل همکاری در کلیه مراحل این مطالعه و نیز از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به جهت تأمین هزینه‌های مورد نیاز این تحقیق قدردانی و سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Braun W. Heart disease, a textbook of cardiovascular medicine. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2001. p. 1210-1215.
2. Valentin Fuster H. The Heart. 10th ed. New York: Mc Graw Hill; 2001. p. 1065-1095.
3. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ. Inflammaltion, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N Eng J Med 1997; 337(5): 336.
4. Perna AF, De Santo NG. Homocysteine. In: Kopple JD, Massary SG, editors. Kopple and Massary's Nutritional Management of Renal Disease. 2nd ed. Philaderphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 117-123.
5. Majerus PW, Tollefsen DM. Anticoagulant, thrombolytic and antiplatelet drugs. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman's the Parmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2001. p. 1519-1538.
6. Bialecka M. The effect of bioflavonoids and lecithin on the course experimental atherosclerosis in rabbits. Ann Acad Med Stetin 1997; 43: 41-56.
7. Varga Z, Czompa A, Kakuk G, Antus S. Inhibition of the superoxide anion release and hydrogenperoxid formation in PMNLs by flavonolignans. Phythoter Res 2001; 15(7): 608.
8. Utterman G. The mysteries of lipoprotein (a). Science 1989; 246: 904-910.
9. Podolsky DK, Isselbacher KJ. Derangements of hepatic metabolism. In: Fauci AS, Braunwald E, Lsseldacher KJ, Harrison S, editors. Harrison's principles of internal medicine. 14th ed. New York: McGraw Hill; 1998. p. 1667-1672.
10. Mich E, Baller D, Gleichmann U, Mannebach H, Schmidt H, Prohaska W. Fibrinogen and leukocyte number in coronary heart disease: correlation with angiography and clinical degree. Z Kardiol 1995; 84(2): 92-97.
11. Ernst E. Plasma fibrinogen: an independent cardiovascular risk factor. J Intern Med 1990; 227(6): 365-372.
12. Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a Meta analysis

and review of the literature. Ann Intern Med 1993; 118(12): 956-963.

13. Sumeray MS. Montgomery HE, Humphries SE. Beyond coagulation: fibrinogen as a cause of cardiovascular surgical disease. Cardiovasc Drug Ther 1998; 12(3): 261-265.
14. Mead TW. Fibrinogen in ischaemic heart disease. Eur Heart J 1995; 16(Supple A): 31-35.
15. Smith FB, Lee AJ, Fowkes FG, Price JF, Rumley A, low GD. Hemostatic factors as predictors of ischemic heart disease and stroke in the Edinburgh artery study. Arterioscler Thromb Vasc Bio 1997; 17(11): 3321-3325.
16. Kienast J. Fibrinogen and coronary heart disease. Versicherung Smedizine 1995; 47(4): 122-126.
17. Gensini GF, Comeglio M, Colcila A. Hemostatic factors, atherogenesis and atherosclerosis. Biomed Pharmacother 1996; 50(8): 395-405.
18. Kumar S, Kumar D, Rrakash O. Evaluation of antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of Hibiscus tiliaceus flowers. EJA Fche 2008; 7(4): 2863-2871.
19. Bianchini F, Vainio H. Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? J Environ Health Persp 2001; 109(9): 893-902.
20. Fattorusso E, Iorizzi M, Lanzotti V, Taglialatela-Scafati O. Chemical composition of shallot (Allium ascalonicum Hort.). J Agr Food Chem 2002; 50(20): 5686-5690.
21. Mubarak AM, Kulatilleke CP. Sulfur constituents of need seed volatiles: a revision. J Phytochem 1990; 29: 3351-3352.
22. Nishimura H, Higuchi O. Antioxidative activity of sulfur-containing compounds in Allium species for human LDL oxidation in vitro. J Bio Factors 2004; 21(1-4): 277-280.
23. Leelarungrayub N, Chanarat N, Rattanapanone V. Potential activity of Thai shallot (Allium acalonicum L.) extract on the prevention of hemolysis and glutathione depletion in human erythrocyte from oxidative stress. CMU J 2004; 3(3): 225-234.
24. Jalal R, Majid Bagheri S, Moghimi A, Behnam Rasuli M. Hypoglycemic effect of aqueous shallot and garlic extracts in rats with fructose-induced insulin resistance. J Clin Biochem Nutr 2007; 41(3): 218-223.
25. Fallahi F, Roghani M, Bagheri A. Time-dependent hypoglycemic and hypolipidemic effect of Allium ascalonicum L. feeding in diabetic rats. J Babol Univ Med Sci 2010; 12(1): 16-23.
26. Adeniyi BA, Anyiam FM. In vitro anti-Helicobacter pylori potential of methanol extract of Allium ascalonicum Linn. (Liliaceae) leaf: susceptibility and effect on urease activity. J Phytother Res 2002; 18(5): 358-361.
27. Asgari S, Setorki M, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Shahinfard N, Ansari R, et al. Postprandial hypolipidemic and hypoglycemic effects of Allium hertifolium and Sesamum indicum on hypercholesterolemic rabbits. Afr J Pharm Pharmacol 2012; 6(15): 1131-1135.
28. Owoyele BV, Alabi OT, Adebayo JO, Soladoyea AO, Abioyeb AIR, Jimohb SA. Haematological evaluation of ethanolic extract of Allium ascalonicum in male albino rats. J Fitoterapia 2004; 75(13): 322-326.
29. Wang HX, Ng TB. Ascalin, a new anti-fungal peptide with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase-inhibiting activity from shallot bulbs. J Peptides 2002; 23(6): 1025-1029.
30. Mo HQ, Vandamme EJM, Peumans WJ, Goldstein IJ. Purification and characterization of a mannose-specific lectin from shallot

(Allium ascalonicum) Bulbs. J Arch Biochem Biophys 1993; 306(2): 431-438.

31. Wongmekiat O, Leelarugrayub N, Thamprasert K. Beneficial effect of shallot (Allium ascalonicum L.) extract on cyclosporine nephrotoxicity in rats. Food Chem Toxicol 2008; 46(5): 1844-1850.
32. Akhlaghi M, Shabanian G, Rafieian-Kopaei M, Parvin N, Saadat M, Akhlaghi M. Citrus aurantium Blossom and Preoperative Anxiety. Revista Brasileira de Anestesiologia 2011; 61(6): 702-712.
33. Jafarian A, Ghannadi A, Elyasi A. The effects of Allium hirtifolium Boiss. On cell-mediated immune response in mice. Iran J Pharmaceutic Res 2003; 2(1): 51-55.
34. Heidarian E, Soofiniya Y, Hajihosseini R. The effect of aerial part of Cynara scolymus extract on the hyperlipidemia, plasma antioxidant capacity, and super oxide dismutase activity in diabetic rats. J Sharekord Univ Med Sci 2011; 13(5): 1-10 (Persian).
35. Noto D, Barbagallo CM, Cefalu AB. Factor VII activity is an independent predictor of cardiovascular mortality in elderly woman of a Sicilian population: results of an 11-year follow–up. Thromb Haemost 2002; 87(2): 206-210.
36. Scalbert A, Manach M. Dietary polyphenols and the prevention of disease. Crit Rev Foot Sci Nutr 2005; 45(4): 287-306.
37. Xiao D, Pinto JT, Soh JW, Deguchi A. Induction of apoptosis by the garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine (SAMC) is associated with microtubule depolymerization and c-Jun NH (2)-terminal kinase 1activation. Cancer Res 2003; 63(20): 6825-6837.
38. Knowles LM, Milner JA, Dially L. disulfide inhibits P34 (cdc2) Kinase activity through changes in complex formation and phosphorylation. Carcinogenesis 2000; 21(6): 1129-1134.
39. Grenett HE, Abou Agag LA, Parks DA, Booyse FM. Ethanol and polyphenols (cat,quer) increase expression of fibrinolytic protein mRNA in vivo in aortic endothelium. Biol Res 2004; 37(2): 342.
40. Khajehdehi P. Turmeric: Reemerging of a neglected Asian traditional remedy. J Nephropathology 2012; 1(1): 17-22.
41. Stajner D, Canadanović-Brunet J, Pavlović A. Allium schoenoprasum L. as a natural antioxidant. Phytother Res 2004; 18(7): 522-524.