

تأثیر مصرف حاد قره قات (*Vaccinium Myrtillus L*) بر ریسک فاکتورهای بیوشیمیایی آترواسکلروز در خرگوش‌های نر نیوزلندی

دکتر محبوبه سترکی^۱، دکتر محمود رفیعان کوپایی^۲، دکتر اسفندیار حیدریان^۳، دکتر کیهان قطره^۴، نجمه شاهین فرد^۵،

رویا انصاری^۶، زهرا فروزنده^۷

نویسنده‌ی مسئول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی rafieian@yahoo.com

دریافت: ۹۰/۵/۱۹ پذیرش: ۹۰/۱۰/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: تغییرات کمیتی لیپیدهای پلاسما بعد از غذا نقش مهمی در پاتوژنز آترواسکلروز بازی می‌کند. وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در قره‌قات ما را بر آن داشت تا تأثیرات احتمالی -حمایتی این گیاه را بر روی برخی ریسک فاکتورهای آترواسکلروز، به دنبال مصرف غذا، در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک بررسی نماییم.

روش بررسی: در این تحقیق مداخله‌ای تعداد ۲۴ خرگوش نر نیوزیلندی به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه اول رژیم معمولی، گروه دوم رژیم پرکلسترول (۱ درصد)، گروه سوم رژیم پر کلسترول و ۲ درصد پودر قره قات دریافت کردند. فاکتورهای گلوکز، توتال کلسترول (TC)، تری‌گلیسرید (TG)، آپولیپوپروتئین B (ApoB)، ترانس آمینازهای کبدی (ALT, AST)، لیپو پروتئین با دانسیته‌ی پایین (LDL-C) نیترات، نیتريت، فیبرینوژن و فاکتور VII قبل از آزمایش و سه ساعت پس از تیمار، اندازه‌گیری و در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و پس آزمون دانت با یکدیگر مقایسه شدند. $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها: مصرف پودر قره‌قات کاهش معنی‌داری را در سطح LDL-C، توتال کلسترول، آنزیم‌های کبدی (AST, ALT)، ApoB و فیبرینوژن نسبت به گروه رژیم پرکلسترول نشان داد ($P < 0.05$). مصرف قره‌قات تغییر معنی‌داری بر روی میزان گلوکز، تری‌گلیسرید (TG)، فاکتور VII، نیتريت و نیترات ایجاد نکرد ($P > 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت مصرف حاد قره‌قات بر روی برخی از ریسک فاکتورهای آترواسکلروز در هیپرلیپیدمی بعد از غذا می‌باشد.

واژگان کلیدی: قره‌قات، آترواسکلروز، هیپرلیپیدمی، کلسترول، تری‌گلیسرید، ریسک فاکتور قلبی

- ۱- دکترای فیزیولوژی، استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه
- ۲- دکترای فارماکولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی
- ۳- دکترای بیوشیمی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی
- ۴- دکترای بیوشیمی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی
- ۵- کارشناس تحقیقاتی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی
- ۶- کارشناس ارشد بافت‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی
- ۷- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

مقدمه

مصنوعی روش موثری جهت جلوگیری از بی‌نظمی قلبی-عروقی می‌باشد (۵). گیاه قره‌قات با نام علمی *Ericaceae Vaccinium Myrtilus L* و از خانواده Ericaceae حاوی ترکیبات فلاونوییدی فراوان همچون کوئرستین، استراگالین، ایزوکوئرستین، هیپراوزید و انواع آنتوسیانیدین‌ها از جمله سیانیدین، دلفینیدین، پلارگونین، پتونیدین و پیونیدین است. میزان تانن گزارش شده در آن در حدود ۲ تا ۱۰ درصد است و از مهم‌ترین ترکیبات کربوهیدراته می‌توان به ارگانیک اسید و پکتین اشاره کرد (۶ و ۷). تحقیقات فراوانی در زمینه‌ی ترکیبات و عصاره‌ی این گیاه در درمان بیماری‌های گوناگون انجام گرفته است. ترکیبات آنتوسیانینی و بیوفلاونوییدهای این گیاه از جمله مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی محسوب می‌شوند که در رفع رادیکال‌های آزاد و ممانعت از التهاب نقش موثری بر عهده دارند. به نظر می‌رسد این ترکیبات علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی با افزایش سنتز کلاژن و تثبیت و افزایش اتصالات کلاژنی مانع تجزیه‌ی کلاژن و بافت پیوندی در داخل بافت و دیواره‌ی رگ‌ها می‌گردند و با ممانعت از آزاد شدن ترکیبات التهابی دیواره‌ی رگ (مانند هیستامین) مانع فرایند التهاب می‌گردند (۸). با توجه به اینکه قره‌قات خواص آنتی‌اکسیدانی دارد و نظر به اثرات استرس‌هیپرلیپیدمیک بعد از غذا در ایجاد آترواسکلروز، این تحقیق با هدف تعیین تاثیر حاد مصرف قره‌قات بر برخی عوامل خطر آترواسکلروز و اثرات احتمالی حمایتی آن صورت گرفت.

روش بررسی

در این تحقیق پس از تهیه‌ی قره‌قات از فروشگاه‌های محلی شهر شهرکرد جنس و گونه‌ی آن‌ها توسط متخصص گیاه‌شناسی در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد شناسایی و نمونه آن‌ها در واحد هرباریم مرکز مذکور قرار داده شد. میوه‌ی این گیاهان پس از شستشو و هسته‌گیری، در سایه خشک و نهایتاً به صورت پودر مورد

آتروژنیک یک پدیده‌ی بعد غذا است که به صورت زودگذر ایجاد می‌شود. یک وعده‌ی غذایی پر چرب به طور موقتی عملکرد آندوتلیال را تخریب می‌کند، که این اثر می‌تواند توسط آنتی‌اکسیدان‌ها بلوکه شود (۱). آترواسکلروز در زبان عامیانه تصلب شرایین نامیده می‌شود. این یک نوع بیماری سرخرگ‌های بزرگ و متوسط است که یکی از عوامل مرگ و میر در اکثر کشورها می‌باشد. این بیماری از دوران کودکی شروع می‌شود و تظاهرات بالینی آن تا اواخر بلوغ ظاهر می‌شود و عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی در ایجاد و پیشرفت این بیماری دخالت دارند که در بین این عوامل غلظت بالای کلسترول یک فاکتور مهم محسوب می‌شود (۲). افزایش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید و کاهش غلظت HDL از طریق تاثیر بر متابولیسم اسید آراشیدونیک و تحریک لکوسیت‌ها سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد شده (۳) و سنتز نیتریک اکسید را در سلول‌های آندوتلیال کاهش می‌دهد. کاهش نیتریک اکسید به شل‌شدگی وابسته به آندوتلیوم ماهیچه‌ی صاف صدمه می‌زند و رگ را مستعد تشکیل پلاک می‌کند (۴). تولید انواع فعال اکسیژن در سلول‌ها یک فرآیند طبیعی است که این تولیدات در اثر ایجاد وضعیت‌های مختلف فیزیولوژیک مانند التهاب، متابولیسم دارو یا الکل، بیماری‌های ایمنولوژیک، اشعه‌ی UV و کمبود ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان تشدید می‌شود. تولید کنترل نشده‌ی رادیکال‌های آزاد موجب آسیب ماکرو مولکول‌های سلول مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، DNA و سایر مولکول‌های سلول می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با کم کردن اثر رادیکال‌های آزاد می‌توانند از بیماری‌هایی مانند سرطان، آترواسکلروز، صرع، پیری و دیابت پیشگیری کنند. از آنجایی که پراکسیداسیون لیپو پروتئین‌ها به عنوان رویداد کلیدی در پیدایش و توسعه‌ی آترواسکلروز به شمار می‌آید؛ لذا حفاظت آنتی‌اکسیداتیو لیپو پروتئین‌ها در بدن به وسیله‌ی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و

استاندارد، ۰/۱ میلی لیتر از محلول عصاره اضافه شد. آنگاه بر اساس میزان جذب قرائت شده، مقدار فنل کل بر حسب میلی گرم بر گرم عصاره به دست آمد (۱۰).

آزمایشات حیوانی: تعداد ۲۴ خرگوش سفید نیوزیلندی با وزن 2015 ± 34 گرم از انیستیتو رازی کرج خریداری، در لانه‌ی حیوانات به مدت دو هفته در دما و رطوبت مناسب نگهداری و تیمار شدند. تغذیه‌ی خرگوش‌ها با استفاده از مواد غذایی دانه‌ای استاندارد (شرکت رازی، کرج) انجام گردید. سپس حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: رژیم معمولی، رژیم پرکلسترول (۱ درصد)، رژیم پرکلسترول و ۲ درصد پودر قرقات. خون‌گیری از حیوانات در دو مرحله شروع آزمایش (بعد از ۱۵ ساعت ناشتا) و ۳ ساعت پس از مصرف رژیم‌های مداخله‌ای صورت گرفت (۱۱). خون گرفته شده از خرگوش‌ها در دو لوله‌ی جداگانه برای تهیه‌ی سرم و پلاسما (محتوی ۰/۵ سی‌سی سیرات سدیم) ریخته شد. به منظور تهیه‌ی سرم و پلاسما لوله‌ها با دور ۳۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. نیتريت و نیترات به روش Griess Reaction و با کیت مربوطه (شرکت USA R&D System)، فیبرینوژن، گلوکز، توتال کلسترول، LDL-Cholesterol، Triglycerides (TG)،

Aspartate Aminotransferase (AST)، Alanine Aminotransferase (ALT) و Apolipoprotein B (ApoB) توسط روش آنزیماتیک و کیت‌های بیوشیمیایی شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر هیتاچی ۹۰۲ (ژاپن) و فاکتور هفت با استفاده از اندازه‌گیری زمان لخته شدن و در حضور معرف Neoplastin، با کیت STA-Deficient VII، کمپانی (French) Diagnostic Stago و دستگاه کواگولومتر start-4 اندازه‌گیری شدند.

آنالیز آماری: برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و مقایسه‌ی گروه‌های آزمایش از آزمون واریانس یک طرفه و پس آزمون Dunnett استفاده گردید. تمام نتایج به دست آمده به صورت

استفاده قرار گرفت. به منظور استاندارد نمودن پودر قره‌قات تعدادی از فاکتورهای آن‌ها از جمله آنتوسیانین (۹) و پلی‌فنول‌های این گیاه به شرح زیر اندازه‌گیری شد (۱۰).

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین در قره‌قات: یک گرم از پودر گیاه مورد نظر را با ۱۰۰ میلی لیتر حلال اتانول ۹۵ درصد و اسید هیدروکلریک ۱/۵ نرمال به نسبت ۸۵:۱۵ در ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته، سپس درب ارلن با پارافیلیم پوشانیده، به مدت ۱۲ ساعت در یخچال در دمای ۲ تا ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از آن مخلوط صاف گردیده و عصاره‌ی آن جدا و تفاله‌ی حاصله به دفعات مکرر با حلال اتانول اسیدی شستشو داده شد و نهایتاً حجم محلول را به ۲۵۰ میلی لیتر رسانده، سپس جذب آن در سل یک سانتی‌متری و در طول موج ۵۳۵ تعیین و مقدار آنتوسیانین‌های آن با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$A/98 \times 25000 = \text{آنتوسیانین تام (میلی‌گرم در } 100 \text{ گرم نمونه)} \quad (A = \text{Absorbance Sample}) \quad (9)$$

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی در قره‌قات: میزان ترکیبات فنولی کل، بر اساس روش رنگ سنجی فولین - سیوکالتیو (Folin Ciocaltue) و بر حسب اسید گالیک، اندازه‌گیری شد. ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ ppm از اسید گالیک در محلول ۶۰ درصد متانول تهیه شد. آنگاه از هر یک ۰/۱ میلی لیتر به لوله‌ی آزمایش منتقل و به آن‌ها ۰/۰۵ میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد واکنش‌گر فولین - سیوکالتیو اضافه، پس از ۵ دقیقه به آن ۰/۴ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. آنگاه لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری، پس از آن میزان جذب به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر و در سه تکرار اندازه‌گیری شد. سپس ۱۰ میلی گرم از عصاره‌ها را در متانول ۶۰ درصد حل کرده، به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده، بر اساس روش فولین - سیوکالتیو میزان فنل کل، تعیین شد با این تفاوت که به جای محلول

لیپیدی، مصرف قره‌قات کاهش معنی‌داری را در سطح LDL-C, TC, ApoB و کلسترول نسبت به گروه رژیم پرکلسترول نشان داد؛ ولی تغییر معنی‌داری بر روی تری‌گلیسرید (TG) ایجاد نکرد (جدول ۱). در رابطه با فاکتورهای التهابی و انعقادی، مصرف گیاه قره‌قات موجب کاهش معنی‌دار در میزان فیبرینوژن شد ولی تاثیری بر سطح فاکتور هفت نداشت (جدول ۱). در رابطه با مارکرهای آندوتلیال (نیتريت و نیتريت)، گرچه میزان نیتريت و نیتريت به علت مصرف قره‌قات نسبت به رژیم پرکلسترول کاهش نشان داد؛ اما این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۱).

Mean \pm SD محاسبه گردید. در تمامی موارد $P < 0.05$ سطح معنی‌داری اختلاف‌ها تلقی شد.

یافته‌ها

میزان فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در خرگوش: مصرف قره‌قات موجب کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم‌های کبدی (AST, ALT) شد (جدول ۱). میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، فیبرینوژن، در گروه پرکلسترول در مقایسه با گروه رژیم معمولی افزایش معنی‌دار داشت. هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه قره‌قات و رژیم پرکلسترول از نظر میزان گلوکز مشاهده نشد (جدول ۱). در مورد پروفایل

جدول ۱. مقایسه‌ی (میانگین \pm انحراف معیار) فاکتورهای بیوشیمیایی در گروه‌های تجربی سه ساعت پس از دریافت رژیم‌های مداخله‌ای

فاکتورهای بیوشیمیایی	رژیم معمولی	قره قات	رژیم پرکلسترول
لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین	۲۴/۱۳ \pm ۱/۲۶*	۱۹/۳۸ \pm ۱/۹*	۳۹/۳۱ \pm ۳/۲۰
فیبرینوژ (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۱۸/۹ \pm ۲/۶*	۲۱۳/۹ \pm ۵/۱*	۲۵۱ \pm ۴/۶
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵۰/۵۰ \pm ۱/۴۳*	۱۱۵/۸۸ \pm ۱۴/۵۲	۱۲۰/۵۶ \pm ۵/۴۵
توتال کلسترول	۵۶/۶۳ \pm ۰/۶۸*	۷۰/۲۵ \pm ۲/۰۹*	۳/۳۷ \pm ۹۱
آلانین آمینو ترانسفراز (u/l)	۲۶/۶۳ \pm ۰/۵۰*	۲۹/۱۳ \pm ۰/۶۴*	۴۰ \pm ۱/۳۴
آسپاراتات آمینو ترانسفراز (u/l)	۲۹/۷۵ \pm ۰/۵۳*	۳۵/۶۳ \pm ۱/۴۳*	۴۳/۲۲ \pm ۲/۶۳
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵۱/۲۵ \pm ۳/۱۲*	۱۴۳/۷۵ \pm ۵/۸۷	۱۳۲ \pm ۳/۵۷
آپولیپوپروتئین B (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۷/۸۸ \pm ۰/۸۸	۲۷/۱۳ \pm ۰/۴۴*	۳۰/۷۸ \pm ۱/۰۲
فاکتور هفت	۲۹۵/۷ \pm ۲/۵	۲۹۶ \pm ۵/۵	۲۹۸/۱ \pm ۵/۷

LDL- (Low Density Lipoprotein), TG (Triglyceride), TC(Total Cholesterol), ApoB(Apolipoprotein B), Alanine Aminotransferase (ALT), Aminotransferase Aspartate (AST).

$P < 0.05$.* اختلاف با گروه پرکلسترول

بحث

احتمالی حمایتی این گیاه بر روی برخی ریسک فاکتورهای آترواسکلروز بود. نقش مستقیم افزایش میزان رادیکال‌های آزاد در ایجاد و پیشرفت بیماری آترواسکلروز، آنتی‌اکسیدان‌ها را به عنوان عواملی بسیار تاثیرگذار در جلوگیری از پیشرفت

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر بررسی تاثیر حاد مصرف قره‌قات بر روی سطح لیپوپروتئین‌های افزایش یافته در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک و در نتیجه بررسی تاثیرات

کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها اختلال ایجاد می‌گردد. از مشخصات آن ناهنجاری‌های متابولیک و عوارض مزمن در چشم، کلیه، اعصاب، عروق خونی و قلب است. رسوب کلاژن و گلیکو پروتئین‌ها در دیواره‌ی عروق خونی موجب ضخیم شدن دیواره‌ی رگ و عواقب ناشی از آترواسکلروز می‌شود (۱۷). بنابراین کاهش قند خون ناشی از مصرف قرقات می‌تواند به عنوان یک اثر مفید در این زمینه و همچنین در کاهش آترواسکلروز تلقی شود. آنالیز میوه‌ی قره قات نشان می‌دهد این میوه سرشار از کوئرستین و ایزوکوئرستین است. این مواد با اثر بر روی سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده موجب ترشح انسولین می‌شوند. همچنین دارای اثرات مهارکنندگی بر تجمع سوربیتول در بافت‌های بدن است (۱۸). تحقیقات انجام شده توسط روغنی و همکاران در بررسی اثر بخش‌های هوایی قره‌قات نشان دهنده‌ی کاهش قند خون و اثرات هیپوگلیسمیک این گیاه در موش‌های دیابتی است که با نتایج ما در گروه تیمار شده با قره‌قات همسو می‌باشد (۱۹). کوبایاشی و همکاران گزارش کردند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهی جذب گلوکز را در روده کاهش می‌دهد این اثر احتمالاً با مهار آنزیم‌های گوارشی نظیر آلفا‌آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز که در هیدرولیز کربوهیدرات شرکت دارند، مهار انتقال گلوکز از غشای چین خورده‌ی روده‌ی کوچک و به تاخیر انداختن تخلیه‌ی محتویات معده به روده‌ی کوچک صورت می‌گیرد (۲۰). از دیگر مکانیزم‌های احتمالی ترکیبات فنلی می‌توان به اثرات این ترکیبات در ممانعت از آنزیم گلوکز ۶- فسفاتاز اشاره کرد. این آنزیم موجب جدا کردن فسفات از گلوکز استریفیه می‌شود. این امر موجب آزاد شدن گلوکز در خون می‌گردد. در نتیجه کاهش یا توقف فعالیت این آنزیم موجب کاهش قندخون می‌شود (۲۱). نتایج ذکر شده با مطالعه‌ی حاضر همسو نمی‌باشد. عدم کاهش میزان گلوکز خون می‌تواند به دلیل کوتاهی مدت مطالعه باشد. مکانیزم بالقوه که توسط پلی فنل‌ها انجام

این بیماری مطرح می‌کند. قره‌قات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً قوی بوده (۱۲) و لذا می‌تواند باعث کاهش رادیکال‌های آزاد شده، نقش موثری در جلوگیری از آترواسکلروز ایفا می‌کند. اعتقاد بر این است که توانایی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی خانواده‌ی قره‌قات به علت وجود H و OH در حلقه‌ی آروماتیک آن‌هاست که موجب دفع رادیکال‌های آزاد، ممانعت از اکسیداسیون LDL، توانایی شلات کردن یون‌های فلزی، توانایی تحریک آنتی‌اکسیدان‌های اندروژن و ممانعت از تولید NO می‌شود (۱۳). قره‌قات دارای ۲ تا ۱۰ درصد تانن است. تانن بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی موثر بوده که احتمالاً باعث تبدیل LDL نوع B به A می‌شود. آنچه امروزه علاوه بر سطح کلسترول LDL مدنظر قرار گرفته است، تقسیم بندی LDL به انواع کوچک با دانسیته‌ی بیشتر (گروه B) و انواع با دانسیته‌ی کمتر (گروه A) می‌باشد. ثابت شده که نوع B از LDL با سه برابر خطر بیشتر جهت ایجاد بیماری‌های همراه می‌باشد. این نوع LDL سریع‌تر اکسید شده، به عامل آتروژنیک Ox-LDL تبدیل می‌شود به این ترتیب سطح تام کلسترول نمی‌تواند مبنای مقایسه از نظر خطرزایی بیماری قلبی عروقی باشد (۱۴). مطالعات حیوانی انجام شده در خرگوش‌های هیپرکلسترولمی تیمار شده با آنتوسیانیدین‌های قره‌قات نشان دهنده‌ی عدم تغییر در میزان کلسترول خون است که نتایج آن با یافته‌های ما همسو نمی‌باشد (۱۵). این مساله ممکن است به دلیل عدم حضور آنتی‌اکسیدان‌های دیگر موجود در قره‌قات باشد. ایزوفلاون‌ها با نقش موثر خود در افزایش فعالیت رسپتورهای LDL و افزایش کاتابولیسم LDL در کبد سطح کلسترول را کاهش می‌دهند (۱۶). حضور ایزوفلاون‌ها در قره‌قات احتمال وجود چنین مکانیسمی را برای اثرگذار بودن این گیاه مطرح می‌کند. دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیک در انسان است و تقریباً تمام ساختارهای بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این بیماری به دلیل فقدان نسبی یا مطلق انسولین در متابولیسم

از جمله فاکتور VII می‌شوند (۲۹). عدم کاهش فاکتور VII در این تحقیق می‌تواند به دلیل کوتاهی مدت مطالعه باشد؛ زیرا سنتز آن در کبد نیاز به زمان کافی دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که قره‌قات موجب کاهش معنی‌دار در میزان آنزیم‌های SGPT و SGOT می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که آنزیم SGOT عمدتاً در کبد و قلب تولید می‌شود و در بیماری‌های قلبی - عروقی از جمله انفارکتوس میوکارد و بیماری‌های کبدی افزایش می‌یابد و آنزیم SGPT که عمدتاً در کبد تولید می‌شود بیشتر در بیماری‌های مربوط به کبد و در افراد الکلی افزایش می‌یابد. تحقیقات حیوانی انجام شده بر روی میوه قره‌قات نشان می‌دهد که آنتوسیانین‌ها، ویتامین E و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوان این میوه مانع از آسیب اکسیداتیو تحریک شده با تتراکلرید کربن در کبد حیوان می‌شود (۳۰). مطالعات طاهر و همکاران در سال ۸۶ نشان داد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره شوید و کرفس موجب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد در هپاتوسیت‌ها و کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SGPT و SGOT و ALT شده است (۳۱). بنابراین کاهش میزان آنزیم‌های SGPT و SGOT را در گروه‌های پرکلسترول دریافت‌کننده رژیم قرقا را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاه نسبت داد. مطالعات فراوان نشان داده است که آنتوسیانین‌ها از آسیب آندوتلیال جلوگیری کرده، بازدارنده‌ی مرگ سلولی در سلول‌های اندوتلیال هستند. مشخص شده است که آنتوسیانین‌ها سلول‌های آندوتلیال را از طریق بازدارندگی پراکسی‌نیتريت که موجب آسیب اکسیداتیو می‌شود حفظ می‌کنند. بنابراین آنتوسیانین‌ها از طریق کاهش بیان iNOS (آنزیمی که به وسیله سلول‌های مختلف توسط سیتوکاین‌ها در شرایط استرس التهابی ایجاد می‌شود) و همچنین از طریق بازدارندگی LPS (لیپوپروتئین باکتریایی) که موجب فعالیت NF-K β می‌شود، عمل می‌کنند. به نظر می‌رسد آنتوسیانین‌ها اثرات متضادی بر ایزوفرم‌های NOS

می‌شود، کاهش هضم و جذب چربی و کاهش فعالیت لیپاز در معده است (۲۳ و ۲۲). ویلکوکس در سال ۲۰۰۱، گزارش داد که پلی‌فنل‌های غنی از کاتچین موجب مهار معنی‌دار در امولسیفیکاسیون و نیز مهار فعالیت لیپاز پانکراس، معده و دوازده می‌شوند (۲۴). اختلال در فیبرینولیز و انعقاد با پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی مانند عروق کرونر، هیپرتانسیون و شوک ایسکمیک ارتباط دارد (۲۵). فیبرینوژن به عنوان یک فاکتور التهابی و انعقادی نقش مهمی در پیچیدگی فرایند آترواسکلروز ایفا می‌کند. اکسیداسیون فیبرینوژن و باقی مانده‌های ناشی از فیبرینوژناز، موجب تحرک تجمع پلاکت‌ها و افزایش IL-6 می‌شود (۲۶). التهاب و تجمع پلاکت‌ها موجب افزایش تولید فیبرینوژن تا ۴ برابر در کبد می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که آنتوسیانین‌ها و آنتوسیانیدین‌های موجود در گیاه قره‌قات با تأثیر بر ساختار و متابولیسم کلاژن باعث استحکام و کراس بهتر فیبرهای کلاژنی (با تأثیر بر آنزیم پرولین هیدروکسیلاز) در محل التهاب و آسیب دیواره‌ی رگی می‌شوند؛ در واقع به نوعی مانع از چسبندگی کلاژن به پلاکت‌ها در مرحله‌ی اولیه التهاب و آسیب رگ می‌شوند (۲۷). همچنین این گیاه از عملکرد آنزیم الاستاز (آنزیم تجزیه‌کننده‌ی کلاژن و دیگر ترکیبات ماتریکس خارج سلولی) ممانعت می‌کند (۲۸) که ممکن است بتواند در ممانعت از ایجاد آترواسکلروز موثر واقع شود. از آنجایی که قره‌قات حاوی تانن فراوان در دانه و میوه است و این ترکیب از دیرباز به عنوان یک ترکیب ضد انعقادی شناخته شده است، می‌توان عملکرد قره‌قات را در کاهش فیبرینوژن به عملکرد ضد التهابی و خواص ضد انعقادی آن به‌طور همزمان نسبت داد. فعالیت فاکتور VII با افزایش ریسک بیماری قلبی عروقی ارتباط دارد. افزایش بعد از غذا در فعالیت این فاکتور با مصرف غذای پرچرب به دلیل افزایش مقدار پروتئین VII است. فاکتور هفت می‌تواند به‌طور حاد به وسیله‌ی غذا تنظیم و تعدیل شود. فلاونوئیدها موجب کاهش فاکتورهای انعقادی

خواص ضدالتهابی و هیپولیپیدمی قره قات را نشان می‌دهد.

تقدیر و تشکر

این مقاله منتج از طرح پژوهشی و پایان‌نامه کارشناسی ارشد بوده؛ لذا نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسوولان محترم معاونت پژوهشی و پرسنل مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، اعلام می‌نمایند.

References

- 1- Bowen P, Borthankur G. Postprandial lipid oxidation and cardiovascular disease risks. *Curr Atheroscler Rep*. 2004; 5: 477-84.
- 2- Masoura C, Pitsavos C, Aznaouridis K, Skoumas L, Vlachopoulos Ch, Christodoulos Stefanadis arterial endothelial function and wall thickness in familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipidemia and the effect of statins. A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2011; 214: 129-138.
- 3- Lee P, Prasad K, Suppression of oxidative stress as mechanism of reduction of hypercholesterolemic atherosclerosis by cyclooxygenase inhibitor. *Int J Angiol*. 2003; 12: 13-23.
- 4- Kraml P, Flalova L, Andel M. Hyperlipoproteinemia impairs endothelium dependent vasodilation. *Physiol Res*. 2004; 53: 471-80.
- 5- Bahoroun T, Soobratteema L, Aruoma OI. Free radicals and antioxidant in cardiovascular health and disease. *J Med Update*. 2006; 2: 1-20.

دارند. طبق مطالعات انجام شده تولید NO توسط eNOS نقش مهمی در آغاز هموستازی عروق کرونر دارد؛ در حالی که تولید NO توسط iNOS موجب بیماری‌های عروق کرونر می‌شود. بنابراین آنتوسیانین‌ها در تعادل بین eNOS و iNOS نقش مهمی ایفا می‌کنند (۳۲). نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف حاد قره قات موجب کاهش عوامل ریسک آترواسکلروز می‌شود. این امر می‌تواند از طریق مهار استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید محقق شود. این مطالعه

- 6- Dua Q, Jerz G, Winterhalter P. Isolation of two anthocyanin sambubiosides from bilberry by high speed counter current chromatography. *J Chromatography*. 2004; 1054: 59-63.
- 7- Matsunaga N, Chikaraishi Y, Shimazawa M, Yokota Sh, Hara H. Vaccinium myrtillus extract reduce angiogenesis in vitro and in vivo. *Advance Access Publication*. 2007; 7: 47-56.
- 8- Canter PH, Ernst E. Anthocyanosides of vaccinium myrtillus (bilberry) for night vision: a systematic review of placebo-controlled trials. *Surv Ophthalmol*. 2004; 49: 38-50.
- 9- Francis FJ. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press; 1982.
- 10- Maria Teresa M, Sandra J, Eduardo S, et al. Betalain acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pear. *Int J Mol Sci*. 2011; 12: 6452-68.
- 11- Daher C, Abou-khalil J, Baroody G. Effect of acute and chronic grapefruit, orange and pineapple juice intake on blood lipid profile in

- normolipidemic rat. *Med Sci Monit.* 2005; 11: 465-72.
- 12- Zarban A, Malekane M, Najary M. Evaluation of antioxidant properties of 28 medicinal plants. *Birjand J Med Sci.* 2004; 11: 9-15.
- 13- Kasai H, Fukada S, Yamaizumi Z, Sugie S, Mori H. Action of chlorogenic acid in vegetable in fruits as an inhibitor of 8-hydroxydeoxyguanosin Formation in vitro and in rat carcinogenesis model. *Food Chemistry Toxicol.* 2000; 38: 467-71.
- 14- Katia T, Lotfi B. Polymeric grape seed tannis prevent plasma cholesterol change in high-cholesterol-fed rat. *Food Chem.* 1994; 49: 403-6.
- 15- Kadar A. Influence of anthocyanoside treatment on the cholesterol induced atherosclerosis in the rabbit. *Paroi Arterielle.* 1979; 5: 187.
- 16- Lissin LW, Cooke J. Phytoestrogen and cardiovascular of health. *J Am College Cardiol.* 2000; 35: 1403-10.
- 17- Mandrupe Poulsen T. Diabetes. *BMJ.* 2005; 316: 1221-25.
- 18- Rajabian T, Fallah Hosseini H. Effect of fruit juice and pomegranate seed oil on blood lipid levels and progression of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J Med Plants.* 2007; 7: 93-104.
- 19- Roughani M, Balouchnezhad MT. The effect of feeding with aerial parts of *Vaccinium myrtillus* on blood glucose and lipid rats. *Iranian J Lipid.* 2008; 7: 151-58.
- 20- Ashok K, Rao J. Diabetes mellitus and multiple therapeutic of phytochemical present status and future prospects. *Current Sci.* 2002; 83: 30-8.
- 21- Armulik A. Splice variant of human beta integrins origin biosynthesis and function. *Bio Sci.* 2002; 7: 219-27.
- 22- Teissedre P, Landrult N. Wine phenolics contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Res Int.* 2000; 33: 461-7.
- 23- Juhel C, Armand M, Pafumi Y, Vandermander J, Lairan D. Green tea extract (AR25) inhibits lypolysis of triglycerides in gastric and median invitro duodenal. *Nutr Biochem.* 2000; 11: 45-51.
- 24- Wilcox J, Subramanian R, Sundell C, et al. Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 2479-88.
- 25- Noto D, Barbagallo C, Cefalu A. Factor VII activity is an independent predictor of cardiovascular mortality in elderly women of a Sicilian population: results of an 11-year follow-up. *Thromb Haemost.* 2002; 87: 206-10.
- 26- Roitman EV, Azizova O, Amorozoa A, Aseick VA. Effect of oxidized of experimental biology fibrinogen on blood coagulation. *Bull Exp Biol Med.* 2004; 138: 277-79.
- 27- Morazzoni P, Bombardelli E. *Vaccinium myrtillus* L (bilberry). *Fitoterapia.* 2006; 67: 3-29.
- 28- Vermeulen NPE: Role of metabolism in chemical toxicity. Ioannides C eds. *Cytochromes*

P450: Metabolic and Toxicological Aspects. New York: CRC Press; 1996.

29- Vaisanen S, Rankinen T, Penttila I, Rauramaa R. Factor VII coagulant activity in relation to serum lipoproteins and dietary fat in middle-aged men. *Thromb Haemost.* 1995; 73: 435-8.

30- Bell DR, Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin rich extract. *J Applied Physiol.* 2006; 100: 1164-70.

31- Taher M, Ghannadi A, Karmiyan R, Effect of volatile oil extracts of *Anethum graveolens L.* and

Apium graveolens L. seed on activity of liver enzymes in rat. *J Qazvin Univ Med.* 2007; 2: 8-12.

32- Okopien B, Krisiak R, Madej A, Belowski D, Zielinski M, Kowalski J. Effect of simvastatin and fluvastatin on plasma fibrinogen levels in patients with primary hypercholesterolemia. *Polish J Pharmacol.* 2004; 56: 780-81.

The Beneficial Effects of Vaccinium Myrtillus L. Intake on Atherosclerosis Risk Factors in Male New Zealand Rabbits

Setorki M¹, Rafieian M², Heidarian E³, Ghatreh K³, Shahinfard N², Ansari R², Frozandeh Z²

¹Dept of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

²Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

³Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Rafieian M, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Email: rafieian@yahoo.com

Received: 10 Aug 2011 **Accepted:** 10 Jan 2012

Background and Objective: The increase in the blood concentration of lipids after meals has a significant effect on induction of atherosclerosis. *Vaccinium myrtillus* has an antioxidant activity, and in this study, we aimed to determine the effects of this plant on atherosclerosis risk factors.

Material and Methods: In an experimental study, 24 male New Zealand rabbits were randomly designated into three groups of 8 rabbits: Group 1, normal diet; Group 2, a diet containing 1 % cholesterol; and Group 3, a diet containing 1% cholesterol and 2% *Vaccinium myrtillus* powder. The blood glucose, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), apolipoprotein B (ApoB), Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), LDL-C (low density lipoprotein), nitrite, nitrate, fibrinogen, and factor VII, which are considered as atherosclerosis risk factors, were measured before the experiment and 3 hours after feeding. The data were analyzed using One-Way Analysis of ANOVA. The P-values below 0.05 (P<0.05) were considered as significant.

Results: Consumption of *Vaccinium myrtillus* significantly decreased the concentrations of LDL-C, TC, aminotransaminases (AST, ALT), ApoB, and fibrinogen compared to the hyper-cholesterolemic diet group (P<0.05). However, no significant differences was found between the group taking *Vaccinium myrtillus* and hyper-cholesterolemic diet group with regard to the serum glucose, TG, factor VII, nitrite, and nitrate (P>0.05).

Conclusion: The results of this study show that acute consumption of *Vaccinium myrtillus* might have a protective effect on some atherosclerosis risk factors.

Keywords: *Vaccinium myrtillus*, *Atherosclerosis*, *Hyperlipidemia*, *Cholesterol*, *Triglyceride*, *Atherosclerosis risk factors*