Biochemical and histopathological study on preventive effects of Punica granatum L. extract on fatty liver disease in the rats receiving high fat diet.

Amiry H., Graduate veterinary Medicine[1], Fakour Sh., PhD[2], Akradi L., PhD[3]

1. Graduate of Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.
2. Associate professor of large animal internal medicine, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch Islamic Azad University, Sanandaj, Iran (Corresponding author), Tel: 087- 33367117, Fakours@yahoo.com.
3. Assistant professor of Pathology, Department of Pathoology, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is recognized as a metabolic liver disease in the world. The purpose of this study was to investigate the preventive effects of Punica granatum extract on fatty liver disease in the rats receiving high fat diet.

Material and Methods: In this study rats were divided into 6 groups: healthy control, feeding with high fat diet, feeding with high fat diet plus clofibrate and feeding with high fat diet plus Punica granatum extract with different doses for 6 weeks. At the end of the experiment biochemical indices including LDL, HDL, triglyceride and cholesterol, hepatic enzymes (AST, ALT, ALP) and concentrations of GPX, SOD, and CAT antioxidants in serum were measured. After histopathologic examinations and grading of fatty liver the groups were compared with one another.

Results: High-fat diet group showed statistically significant increase in hepatic enzymes, cholesterol, triglyceride and LDL compared to other groups. Whereas high dose extract and clofibrate groups showed statistically significant increase in HDL and antioxidant activity compared to other groups. The results of histopathological examination showed fatty liver changes of grade 4 in the high-fat diet, grade 1 in the extract and grade zero in the clofibrate groups.

Conclusion: The results of this study showed the preventive effect of Kurdistan native Punica on fatty liver disease which is related to its antioxidant properties.

Key words: Punica extract, Fatty liver, Hepatic enzyme, Antioxidant, Biochemical studies.

Received: Jan 16, 2018 **Accepted:** May 22, 2018

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و سوم / مرداد و شهریور ۱۳۹۷/۵۵-۴۵

مطالعه بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی اثرات پیشگیرانه عصاره میوه انار (Punica granatum L.) در بیماری کبد چرب در موش های تغذیه شده با جیره پرچرب

حسین امیری[1]، شاهین فکور[2]، لقمان اکرادی[3]

۱.دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.

۲. دانشیار بیماری های داخلی، گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران (مولف مسئول)، تلفن ثابت: ۳۳۳۶۷۱۱۷- ۰۸۷، fakours@yahoo.com

۳. استادیارپاتولوژی، گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.

چکیده

زمینه و هدف :کبد چرب غیر الکلی به عنوان یک بیماری متابولیکی کبد در جهان شناخته شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر پیشگیرانه عصاره آبی اناربومی منطقه کردستان از ایجاد کبد چرب در اثر رژیم غذایی پرچرب در موش می باشد.

روش بررسی : در این مطالعه ، ۴۸ سر موش به ۶ گروه شاهد، تغذیه با جیره پرچرب ، تغذیه با جیره پرچرب و درمان با کلوفیبرات و سه گروه تغذیه با جیره پرچرب و تغذیه با عصاره انار با دوز های مختلف به مدت ۶ هفته تقسیم گردیدند. در پایان پارامترهای بیوشیمیایی HDL-LDL ،تری گلیسرید و توتال کلسترول ، آنزیم های کبدی ALT، AST و ALP و آنتی اکسیدان های GPX-SOD-CAT سرم اندازه‌گیری شدند.با کمک مطالعات هیستوپاتولوژی کبد ضمن درجه بندی، پاسخ گروه های مورد مطالعه مقایسه گردیدند.

یافته ها : در گروه با رژیم پرچرب، آنزیم های کبدِی ، کلسترول، تری گلیسرید و LDL افزایش معنی داری را در مقایسه با سایر گروهها نشان دادند. اما HDL و آنتی اکسیدان ها در گروه با بالاترین میزان مصرف عصاره و گروه کلوفیبرات افزایش معنی داری را نسبت به سایر گروهها نشان دادند. مطالعات آسیب شناسی تغییر سلول های چربی کبد در گروه پرچرب را در درجه ۴ اما در گروههای عصاره انار و کلوفیبرات بترتیب درجات ۱ و صفر را نشان داد.

نتیجه گیری :نتایج مطالعه نشان داد که عصاره انار بومی کردستان با توجه خواص آنتی اکسیدانی آن اثر پیشگیرانه از سندروم کبد چرب دارد و با افزایش دوز عصاره، نتیجه بهتری حاصل می گردد.

کلیدواژه ها : عصاره انار ، آنزیم کبدی ، بیوشیمیایی، آنتی اکسیدان ، کبد چرب

وصول مقاله:۹۶/۱۰/۲۶ اصلاحیه نهایی:۹۷/۲/۲۲ پذیرش:۹۷/۳/۱

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

مقدمه

کبد چرب یک سندروم متابولیک است که شامل حالات بالینی مختلف از استئاتوز ساده تا استئاتوهپاتیت، فیبروز و بیماری پیشرفته کبدی در غیاب مصرف الکل در انسان می‌باشد که در انسان با نام کبد چرب غیرالکلی Non alcoholic fatty) liver disease) شناخته می‌شود (۱). بیماران مبتلا به NAFLDدر مقایسه با افراد سالم مرگ و میر بالاتری دارند (۲). مطالعات طولانی مدت نشان می دهند که رایج ترین علت مرگ و میر در بیماران مبتلا به NAFLD ، بیماریهای قلبی-عروقی می باشد (۳). دیابت و اختلالات لیپیدی که از عوارض بیماری NAFLD هستند، بیماران را مستعد ابتلاء به بیماری های قلبی-عروقی می نمایند (۴). افزایش سطوح کلسترول تام (TG)در خون به عنوان یک عامل قوی ابتلاء به بیمارهای عروق کرونری قلب در نظر گرفته می شود (۵). افزایش خفیف تا متوسط آمینوترانسفرازهای کبدی، آلانین ترانسفراز(ALT) و آسپارت آمینوترانسفراز (AST) یکی از رایج ترین علام آزمایشگاهی است که در ارزیابی و تشخیص NAFLD به کار گرفته می شود. در واقع NFALD دلیل اصلی افزایش آنزیم های کبدی در بیش از ۹۰٪ موارد است. علت کبد چرب غیر الکلی بطور کامل شناخته شده نمی باشد.نقش مقاومت انسولین،چاقی و استرس اکسیداتیورا در ایجاد و پیشرفت بیماری ایفا می کنند. تا به امروز فرضیه مورد قبول برای توضیح بیماری زایی کبد چرب غیر الکلی، فرضیه دو ضربه می باشد: مقاومت انسولین به عنوان اولین ضربه منجر به تجمع چربی در کبد می شود و در پی آن کبد نسبت به ضربه دوم که استرس اکسیداتیو از منابع مختلف است حساس تر می شود.استرس ناشی از گونه های فعال اکسیژن میتوکندریایی، اندوتوکسین ها، سیتوتوکسین ها و توکسین های محیطی است. استرس اکسیداتیو می تواند پراکسیداسیون چربی را در غشای سلول های کبدی افزایش دهد. درمان های کنونیNAFLD شامل ایجاد اصلاحاتی در رژیم غذایی، افزایش فعالیت بدنی، دارو درمانی و جراحی می باشد (۶).

انار(Punica granatum) از تیره Punicaceae یک درخت کوچک با پتانسیل بالای سلامت زایی است که به طور عمده در ایران و هند و ایالات متحده آمریکا و کشورهای خاور دور رشد می کند (۷) بخش های خوراکی میوه انار شامل ۷۸٪ آب و ۲۲٪ دانه است (۸). آب انار حاوی تانن ها ، الاجیتانن ها ، آنتوسیانین ها ،کاتچین ها ،گالیک اسید و الاجیک اسید و ویتامین های C و E است (۱۳-۹).کاتچین ها به دلیل ساختار کاتکولی خود به فلزات می چسبد و مانع از تشکیل رادیکال آزاد می شود (۱۴). اسید گالیک موجود در عصاره انار به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی مطرح است. که از سلول ها در برابر آسیب های اکسیداتیو بدون آسیب رساندن به سلول های سالم، حفاظت می کند. پلی فنل ها (الاجیتانین ها و اسد الاجیک)، پلی فنل اکسیداز و فعالیت پرکسیداز از فراوان ترین ترکیبات آنتی اکسیدانی اندام های مختلف انار است که از DNA سلولی در برابر استرس های اکسیداتیو و فعالیت رادیکال آزاد محافظت می کنند (۱۶و۱۵). استرس اکسیداتیو زمانی ایجاد می شود که بالانس بین گونه های واکنشگر اکسیژن(ROS)و آنتی اکسیدان ها بر هم بخورد. گونه های فعال اکسیژن (شامل پرکسید هیدروژن، رادیکال های سوپراکسیدو رادیکال های هیدروکسیل) مشتق از متابولیسم اکسیژن در شرایط نامتعادل اکسیداسیون و احیای درون سلولی می توانند آسیب های شدیدی به غشاهای سلولی و ملکول های درشت سلولی مانند پروتئین ها، چربی ها و DNA وارد کنند (۲۰-۱۷). انار به دلیل غنی بودن از آنتی اکسیدانت ها و پلی فنل ها و اثرات ضدسزطانی ناشی از آن امروزه توجه بیشتر محققین را جلب نموده است (۲۱). پونیکالاژین از ترکیبات اصلی در تضعیف پرولیفراسیون و تهاجم سلول های سرطانی است که این اثر را با مهار مسیر β-کاتنین ایجاد می کند (۲۲).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره میوه انار (Punica granatum L.) بومی استان کردستان در پیشگیری از بیماری کبد چرب در موش های رت تغذیه شده با جیره پرچرب می باشد و رویکرد این ارزیابی مطالعه هیستو پاتولوژی در کبد و پارامتر های بیوشیمیایی (TG-CHOL-HDL-LDL) آنزیم های کبدی (AST-ALT-ALP)و آنتی اکسیدان ها (CAT-SOD-GPX) می باشد به گونه ای که بتوان نتایج این مطالعه را بعنوان یک مطالعه بنیادین و کاربردی در بیماری متابولیک کبد چرب بکار برد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مداخله ای – تجربی می باشد، که در آن ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۰ تهیه شده از دانشگاه رازی کرمانشاه) در محدوده وزنی۲۰ ±۲۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات در قفس هایی از جنس پروپیلن و در محیطی با دوره های روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته با دمای ۲± ۲۳ سانتیگراد و دسترسی آزادانه و یکسان به آب و غذا تا پایان مطالعه نگهداری شدند. روش نمونه گیری و تقسیم به طور تصادفی انجام شد. تمام آزمایش ها مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (نشریه مؤسسه ملی سلامت شماره ۸۵-۲۳ تجدید نظر شده ۱۹۸۵) انجام شد. در این مطالعه حیوانات به ۶گروه (n=۸) تقسیم شدند. تعداد نمونه ها بر اساس واریانس کم داده های نتایج قبلی و مطالعات حیوانی انجام شده مشابه، انتخاب شد (۲۴و۲۳).

عصاره گیری:

با حضور در باغات منطقه اورامانات بدون واسطه، انار بومی منطقه خریداری گردید و به قسمت هرباریوم مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان کرمانشاه جهت شناسایی و تأیید جنس، گونه و زیرگونه ارسال شد. سپس ابتدا دانه‌های انار جدا گردیده و توسط میکسر خانگی با هم مخلوط شد سپس آب انار خالص سازی شد و برای حفظ بیشتر مواد آنتی‌اکسیدانی تا زمان عصاره گیری فریز گردید. هسته‌های انار پس از تبدیل به پودر در سایه خشک شد و به نسبت ۱ به ۵ با آب انار مخلوط گردیده سپس به همان نسبت آب انار، آب مقطر افزوده شد و ۲۴ ساعت در دمای یخچال در مجاورت هم نگهداری شدند. سپس مخلوط حاصله را به مدت ۲ ساعت با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد دما داده و هم‌زمان هم زده، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط گذاشته و پس از طی زمان مربوطه عصاره توسط کاغذ واتمن شماره ۲ صاف گردید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری با پمپ خلاء) گردیده و در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان یک ساعت، حلال تبخیر شد. به این ترتیب عصاره تغلیظ شده به دست آمد(۲۵).

ایجاد مدل، تیمار و روش جمع آوری داده ها:

۶گروه مورد آزمایش به گروه شاهد با رژیم غذایی استاندارد، گروه با رژیم غذایی پرچرب علاوه بر رژیم استاندارد، گروه با مصرف داروی کلوفیبرات علاوه بر رژیم استاندارد و پرچرب و سه گروه با مصرف مقادیر متفاوت عصاره انار علاوه بر رژیم استاندارد و پرچرب تقسیم شدند(جدول ۱). این رژیم غذایی مدت ۶ هفته ادامه یافت و برای ایجاد استئاتوز کبدی از امولسیون پرچرب (جدول۲) به‌صورت خوراکی و از طریق گاواژ روزانه به مدت ۶ هفته بر اساس روش ارائه شده توسط Zou و همکاران به موش‌ها خورانده شد(۲۶).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

جدول ۱: رژیم غذایی، دارو و عصاره انار در ۶ گروه مورد مطالعه

گروه ۱ شاهد	رژیم غذایی استاندارد
گروه ۲ امولسیون پرچرب	رژیم غذایی استاندارد + ۱۰ mg/kg امولسیون پرچرب
گروه۳ کلوفیبرات	رژیم استاندارد + ۱۰ mg/kg امولسیون پرچرب + ۳۲۰mg/kg کلوفیبرات
گروه۴عصاره انار	رژیم استاندارد + ۱۰ mg/kg امولسیون پرچرب + ۱۰۰mg/kg عصاره انار
گروه ۵ عصاره انار	رژیم استاندارد + ۱۰ mg/kg امولسیون پرچرب + ۲۰۰ mg/kg عصاره انار
گروه ۶ عصاره انار	رژیم استاندارد +۱۰ mg/kg امولسیون پرچرب + ۴۰۰mg/kg عصاره انار

جدول ۲: ترکیب رژیم غذایی امولسیون پر چرب

ترکیب	میزان (گرم)
روغن ذرت	۴۰۰
ساکارز	۱۵۰
پودرکامل شیر	۸۰
کلسترول	۱۰۰
سدیم دی اکسی کولات	۱۰
توئین ۸۰	۳۶/۴
پروپیلن گلیکول	۳۱/۱
مولتی ویتامین	۲/۵
نمک	۱۰۰
موادمعدنی مخلوط	۱/۵
آب مقطر	**۳۰۰ میلی لیتر**

در پایان روز ۴۲ با تزریق با عضلانی کتامین ۵۰ mg/kg و زایلازین ۱۰ mg/kg (ساخت کمپانی Alfasanو Gedeon) بیهوش شدند(۲۵)و ناحیه میانی شکم کاملاً تراشیده شده و با الکل ۷۰٪ و بتادین ضدعفونی شد. سپس یک شکاف طولی به اندازه ۳ سانتیمتر در خط میانی شکم ایجاد و با کمک سرنگ انسولین بطور مستقیم از قلب آنها خونگیری بعمل آمد. و پس از سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سرم جدا گردید.سپس پارامترهای بیوشیمیایی (TG-CHOL-HDL-LDL) و آنزیم های کبدی (AST-ALT-ALP) با استفاده از کیت Biosystem ساخت کشور اسپانیا و آنتی اکسیدان های (GPX-SOD-CAT) با استفاده از کیت Zellbio ساخت کشور آلمان بر مبنای روش کالریمتریک و با استفاده از روش اسپکتروفتومتریک اندازه‌گیری گردید. همزمان با بازکردن محوطه بطنی موش ها از کبد نیز نمونه برداری بعمل آمد.(۲۴) تا با تهیه مقاطع میکروسکپی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین و رنگ آمیزی اختصاصی PAS (Periodic Acid Schiff)، ضمن بررسی سلول های چربی کبد و درجه بندی آن،

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

تغییرات سلول ها در گروههای مورد مطالعه مقایسه گردند. وجود سلولهای چربی به میزان تقریبی تا ۲۵٪، ۵۰-۲۵٪،۷۵-۵۰٪ و بیش از ۷۵٪ بترتیب درجات ۱ تا ۴ کبد چرب را نشان میدهد. رنگ آمیزی PAS به منظور تفکیک سلول های چربی از گلیکوژن صورت گرفت.

آنالیز آماری:

برای تحلیل داده ها از بسته نرم افزاری SPSS21 استفاده شد. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار (Mean±SE) و فراوانی به ترتیب برای متغییرهای کمی و کیفی بیان شده است.نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorof-smirnof ارزیابی شد و اختلاف معنا دار بین گروه ها توسط آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی توکی مورد بررسی قرار گردیده و برای مقایسه درجات هیستوپاتولوژیک استئاتوز کبد بین گروه های مورد مطالعه از مطالعه توصیفی درجه بندی استئاتوز ۱ تا ۴ استفاده شد و اختلافات در سطح ۵ درصد معنی دار تلقی گردید .

یافته ها

نتایج مطالعه حاضر در آنزیم های کبدی شامل ALT,AST,ALP ، پارامترهای بیوشیمیایی شامل پروفایل لیپیدی (تری گلیسرید، کلسترول، LDL,HDL)، و غلظت عوامل آنتی اکسیدانت ها شامل (CAT,SOD,GPX) در ۶ گروه مورد مطالعه در جداول ۳تا۶ آمده است. افزایش آنزیم ها کبدی در گروه موش های با رژیم غذایی پرچرب، از القا کبد چرب و آسیب این سلول ها در طی ۶ هفته حکایت داشت درحالیکه گروههای با مصرف عصاره انار و مصرف کلوفیبرات بطور معنی داری از افزایش آنزیم های کبدی بخصوص ASTو ALT جلوگیری نموده است(P<۰/۰۵)که این نتیجه مبین جلوگیری از آسیب سلول های کبدی در موش های با مصرف عصاره انار و داروی کلوفیبرات است. همچنین نتایج پروفایل لیپیدی افزایش معنی داری را در تری گلیسرید، کلسترول، LDL و کاهش HDL در گروه موش های با رژیم غذایی پر چرب در مقایسه با گروه های با مصرف عصاره انار و داروی کلوفیبرات نشان داد(P<۰/۰۵). نتایج مطالعه درفعالیت پارامترهای آنتی اکسیدانت ، شامل GPX,SODو CAT در گروههای با عصاره انار و کلوفیبرات در مقایسه با موش های با رژیم غذایی پرچرب افزایش معنی داری را نشان داد(P<۰/۰۵)

جدول ۳: میانگین ± انحراف معیار آنزیم های کبدی در ۶ گروه موردمطالعه

گروه ها	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	ALP(IU/L)
عصاره انار ۱۰۰	۴۱/۱۲±۸/۹۶^{a}	۲۱۱/۸۷±۱۴۵/۹۵^{a}	۷۲۸/۰۰±۱۲۲/۴۸
عصاره انار ۲۰۰	۴۴/۸۷±۱۶/۶۴^{b}	۱۱۱/۰۰±۷۷/۴۳^{b}	۶۸۵/۵۷±۲۱۸/۷۸
عصاره انار ۴۰۰	۴۲/۷۵±۱۲/۵۱^{c}	۷۳/۳۷±۸۷/۹۵^{c}	۳۵۶/۰۰±۱۷۲/۳۴^{a}
کلوفیبرات	۳۶/۸۷±۶/۸۵^{d}	۶۸/۲۵±۱۱۶/۸۷^{d}	۷۲۴/۷۵±۱۳۱/۷۵
امولسیون پرچرب	۸۵/۰۰±۱۴/۱۶^{e}	۱۸۵/۵۰±۶۶/۰۱^{e}	۸۳/۵۰±۷۴/۴۸^{b}
شاهد	۵۳/۰۰±۴/۵۸^{f}	۴۶/۳۳±۸/۳۸^{f}	۶۹۳/۶۶±۲۱۶/۹۵^{c}

حروف متفاوت (a ,b, c,...) در یک ستون نشان از اختلاف معنی داری دارد P<۰/۰۵.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

جدول ۴: میانگین ± انحراف معیار پروفایل لیپیدی در ۶ گروه موردمطالعه

گروه ها	CHOL(mg/dl)	HDL(mg/dl)	LDL(mg/dl)	TG(mg/dl)
عصاره انار ۱۰۰	۱۰۷/۱۲±۳۱/۸۱^{a}	۲۶/۶۲±۶/۸۶	۶۲/۵۰±۱۱/۰۹	۱۲۶/۶۲±۴۰/۳۰^{a}
عصاره انار۲۰۰	۸۶/۷۵±۱۷/۶۶^{b}	۲۶/۲۵±۵/۰۶	۵۷/۲۵±۸/۹۴	۹۹/۶۲±۳۷/۶۱^{b}
عصاره انار۴۰۰	۸۵/۲۵±۲۲/۰۶^{c}	۳۰/۷۵±۷/۸۱^{a}	۵۰/۸۷±۱۱/۰۵^{a}	۹۰/۱۲±۳۲/۶۳^{c}
کلوفیبرات	۷۳/۶۲±۱۶/۸۰^{d}	۲۷/۰۰±۷/۸۵	۴۹/۱۲±۱۴/۳۴^{b}	۹۹/۱۲±۳۹/۶۸^{d}
امولسیون پرچرب	۲۱۲/۵۰±۱۵/۷۹^{e}	۱۹/۲۵±۸/۱۳^{b}	۹۵/۲۵±۱۱/۹۰^{c}	۲۵۶/۶۲±۴۱/۷۱^{e}
شاهد	۷۹/۰۰±۶/۰۰^{f}	۲۵/۳۳±۷/۵۷	۴۸/۰۰±۱۲/۱۶^{d}	۱۱۰/۰۰±۳۳/۶۰^{f}

حروف متفاوت(a ,b, c,...) در یک ستون نشان از اختلاف معنی داری دارد P<۰/۰۵

جدول ۵: میانگین ± انحراف معیارعوامل آنتی اکسیدانت در ۶ گروه موردمطالعه

گروه ها	GPX(IU/ml)	CAT(IU/ml)	SOD(IU/ml)
عصاره انار ۱۰۰	۱۹۴/۷۵±۳۲/۰۲	۱/۵۱±۰/۶۵	۳۹/۰۸±۱۲/۰۳^{a}
عصاره انار ۲۰۰	۲۵۶/۵۰±۴۱/۹۰	۱/۰۴±۰/۸۰	۴۲/۴۳±۷/۳۸^{b}
عصاره انار ۴۰۰	۲۹۳/۸۷±۵۴/۸۱^{a}	۳/۸۵±۰/۴۴^{a}	۴۶/۳۵±۱۱/۳۱^{c}
کلوفیبرات	۳۲۵/۰۰±۶۴/۸۹^{b}	۳/۰۷±۰/۷۳^{b}	۴۴/۸۲±۸/۲۱^{d}
امولسیون پرچرب	۲۴۱/۱۲±۳۵/۲۷^{c}	۱/۱۰ .±۷/۳۵^{c}	۲۶/۴۳±۳/۷۰^{e}
شاهد	۳۱۲/۳۳±۲۱/۵۰	۲/۵۶±۰/۲۰	۲۹/۸۰±۳/۷۰^{f}

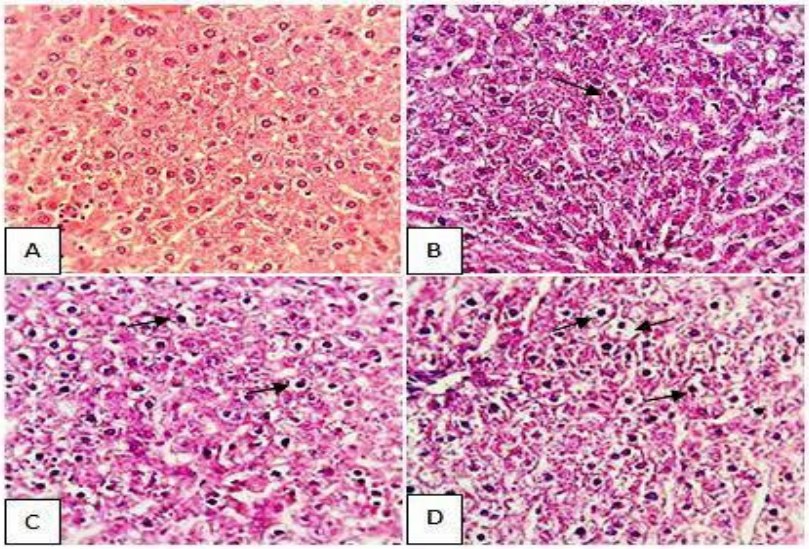
حروف متفاوت (a ,b, c,...)در یک ستون نشان از اختلاف معنی داری دارد P<۰/۰۵

نتایج هیستوپاتولوژیک:

در تصویر ۱ مقاطع میکروسکپی کبد با رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین دیده می شودکه تجمع سلول های چربی دیده می شود و این تجمع چربی بوسیله رنگ آمیزی اختصاصی PAS تایید شد. تغییرات هیستوپاتولوژی کبد به صورت تغییر چربی هپاتوسیت ها بر اساس شدت ضایعه طبق روش های استاندارد از ۰ تا ۴ طبقه بندی می شود.درجه صفر: بدون استئاتوز که در گروه های شاهد و کلوفیبرات حاصل شد درجه+۱ :کمتر از ۲۵درصد هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند که د رگروه عصاره انار با ۴۰۰ میلی گرم حاصل شد درجه+۲: بین ۲۶ تا ۵۰ درصد هپاتوسیت ها دچار ستئاتوز هستند که در گروه عصاره انار با ۲۰۰ میلی گرم دیده شد، درجه+۳: بین ۵۱ تا ۷۵ درصد هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند که در گروه با عصاره انار۱۰۰ میلی گرم و درجه+۴: بیش از ۷۶ درصدکه در گروه با مصرف امولسیون پرچرب نشان داده شد .

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]



تصویر ۱: مقاطع میکروسکپی کبد. کبد نرمال(A) و هپاتوسیتهای حاوی واکوئولهای چربی (پیکان تیره) در درجات مختلف یک مثبت(B)، دو مثبت (C) و سه مثبت (D) . بزرگنمایی ×۴۰۰، رنگ آمیزی H&E

بحث

همانطور که قبلا اشاره شد افزایش آنزیم های کبدی در سرم یکی از یافته های آزمایشگاهی آسیب بافت کبدی می باشد. در مطالعه حاضر افزایش این آنزیم ها در گروه موش های با رژیم غذایی پرچرب از القا کبد چرب و آسیب این سلول ها در طی ۶ هفته حکایت داشت. که این نتیجه با نتایج مطالعه اخلاصی و همکاران و تحویلیان و همکاران هم خوانی داشت. در مطالعه تحویلیان اثر حفاظتی انار برروی استرس اکسیداتیو و سمیت ناشی از متوترکسات را بررسی کردند و مشاهده کردند که استفاده از عصاره انار می‌تواند باعث کاهش معنی دار در آنزیم‌های ALT و ALP و AST شود (۲۸و۲۷). با توجه به ارتباط دیابت و سندروم کید چرب، عثمان و همکاران تأثیر عصاره انار را بر روی موش‌های دیابتی سنجیدند و دریافتند که آنزیم‌های کبدی AST و ALT قبل از استفاده از عصاره افزایش معنی‌داری داشته اند ولی بعد از استفاده از عصاره انار آنزیم‌های آسیب کبدی به میزان گروه کنترل ترکیب شدند (۲۹). صادقی پور و همکاران دریافتند که عصاره انار به‌طور معنی‌داری میزان AST و ALP را در خون کاهش می‌دهد (۳۰) و همچنین در مطالعه الشعیبی و همکاران دریافتند که عصاره انار دارای خواص حفاظت کبدی است و سبب کاهش معنی دار ASTو ALT شده است (۳۱).

در گروههای با مصرف عصاره انار و مصرف کلوفیبرات بطور معنی داری از افزایش آنزیم های کبدی بخصوص ASTو ALT جلوگیری کرد. که این نتیجه مبین جلوگیری از آسیب سلول های کبدی در موش های با مصرف عصاره انار و داروی کلوفیبرات است. عبدالرزاق و همکاران نیز در مطالعه ای پس از القا فیبروز کبدی در رت اثر مصرف پوست انار را در کاهش آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز و آلکالن فسفاتاز مبین نقش آن در بهبود آسیب کبدی دانسته اند(۳۲).

همچنین در مطالعه حاضر نتایج پروفایل لیپیدی افزایش معنی داری را در تری گلیسرید، کلسترول، LDL و کاهش HDL در گروه موش های با رژیم غذایی پر چرب در مقایسه با گروه نشان داد. به عبارت دیگر هیپرتریگلیسریدمی و هیپرکلسترومی ناشی از رژیم غذایی پرچرب منجر به تجمع تریگلیریدها در سلول های کبدی گردیده اند. هیپر

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

کلسترومی، هیپرترگلیسریدمی، میزان کم HDL و سطوح بالای LDL در سرم اختلالاتی هستند که در هومئوستاز لیپیدی مبتلایان به استئاتوز کبد رخ می دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره انار بویژه در غلظت های بالا مشابه داروی کلوفیبرات با بهبود بخشیدن در متابولیسم جربی، از تشکیل واکوئل های چربی و تجمع چربی در کبد بدنبال تغذیه با رژیم غذایی پر چرب جلوگیری می کند. حسن و همکاران در موش‌های با کبد چرب تغییرات CHOL، TG و HDL را بررسی کردند و مشاهده کردند که گروه حفاظت کبدی در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری نکرده است ولی در مقایسه با گروه کبد چرب کاهش معنی دار در سطح CHOL و TG و افزایش معنی دار در سطح HDL مشاهده کردند (۳۳). مطالعه کومار و همکاران در استفاده از پوست انار در رژیم غذایی جوجه های گوشتی کاهش معنی داری را در سطح کلسترول خون نشان داد (۳۴) و همچنین صادقی پور و همکاران اثر عصاره پوست انار را در موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب بررسی کردند و دریافتند که در میزان CHOL و TG و LDL کاهش معنی‌داری به وجود آمده است درحالی‌که HDL در گروه چربی با دوز بالا در مقایسه با گروه کنترل زیاد شده بود (۳۰). مطالعات نشان داده است آب انار می تواند منجر به افزایش بیان و فعالیت آنزیم پاراکسوناز۱(Paraoxonase 1) گردد. این آنزیم دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد و از LDL و HDL در برابر اکسیداسیون محافظت می کند. فعالیت سرمی این آنزیم در افراد دچار دیابت، هیپرکلسترولمی و مشکلات قلبی-عروقی کاهش می یابد. آب انار از طریق کاهش پراکسیدهای چربی و یا اثر مستقیم بر این آنزیم، منجر به افزایش فعالیت آن می شود (۳۶و۳۵).

در مطالعه Mozaffariو همکاران ارتباط مثبت بین فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ و غلظتHDL-C مشاهده شده است (۳۷).

نتایج مطالعه حاضر در بررسی پارامترهای آنتی اکسیدانت نشان داد که فعالیت عوامل آنتی اکسیدانت GPX,SODو CAT در موش های با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با گروههای سالم و با عصاره انار و کلوفیبرات کاهش معنی داری را نشان می دهد. به عبارت دیگر موش های با رژیم غذایی پرچرب به دلیل اختلال در پتانسیل آنتی اکسیدانی آنزیمی، قادر به مهار رادیکال های آزاد که باعث آسیب بافت می شوند، نیستند. تجمع چربی در کبد حساسیت این بافت را نسبت به سایر عوامل آسیب رسان مانند استرس اکسیداتیو افزایش می دهد. مطالعه حاضر نشان داد که رژیم غذایی پر چرب باعث آسیب اکسیداتیو در کبد می شود و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان ها در گروه با عصاره انار سیستم آنتی اکسیدانی را تقویت می کند. و می توان نتیجه گرفت که عصاره انار با تقویت فعالیت آنتی اکسیدانی سبب توازن بین عوامل استرس اکسیداتیو و عوامل آنتی اکسیدانی می شود. در تحقیقات مختلف از گالیک اسید موجود در عصاره انار به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی نام برده شده که از سلولها در برابر آسیب های اکسیداتیو بدون آسیب رساندن به سلولهای سالم، حفاظت می کند، همچنین برای درمان عفونتهای ادراری، کاهش قند خون و دیابت، پسوریازیس، بواسیر، فشار خون و تصلب شرایین نیز گزارش شده است (۳۵). تحویلیان و همکاران در مطالعه‌ای اثر آنتی‌اکسیدانی انار را روی عوارض متوترکسات بررسی کردند و دریافتند که فعالیت SOD و GPX کم شده است (۲۷).

نتایج مطالعه حاضر در مقاطع هیستوپاتولوژی کبد که از هردو رنگ آمیزی معمولی هماتوکسیلین ائوزین و رنگ آمیزی اختصاصی PAS به منظور تفکیک تغییر چربی سلول ها با گلیکوژن استفاده شد، نشان داد که در موش های گروه با رژیم پرچرب، استئاتوز کبد با درجه ۴ حاصل شد، درحالیکه در گروه با مصرف عصاره انار بویژه در غلظت بالابا استئاتوز

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

درجه ۱ از تغییر چربی هپاتوسیت ها جلوگیری به عمل آمده است. این نتایج با نتایج مطالعه عمو اوغلی تبریزی و همکاران که اثر آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز را در موش های با استئاتوزکبد القا شده بررسی کردند هم خوانی دارد. (۳۸). عبدالرزاق و همکاران نیز در مطالعه ای پس از القا فیبروز کبدی در رت نشان دادند که مصرف عصاره پوست انار تجمع کلاژن را تضعیف می کند (۳۲).

نتیجه گیری

انطباق نتایج پارامترهای بیوشیمیایی شامل آنزیم های کبدی، پروفایل لیپیدی و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی و تغییرات هیستوپاتولوژی کبد در این مطالعه نشان داد که عصاره انار با توجه به داشتن پلی فنل ها (الاجیتانین ها و اسید الاجیک) و همچنین آنتوسیانین ها، کاتچین ها، اسید گالیک و ویتامین های Cو E به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی طبیعی عمل می کند. و از سلول های کبدی در برابر آسیب های اکسیداتیو حفاظت می کند. و می توان بیان داشت که عصاره انار دارای اثرات پیشگیرانه در بروز کبد چرب در موش های با رژیم غذایی پر چرب می باشد. به گونه ای که این اثرات با داروی ساختگی کلوفیبرات قابل رقابت می باشد. البته مطالعات بیشتر در آینده بر روی عصاره انار در مدل های غیر آزمایشگاهی به منظور پیشنهاد عصاره میوه انار بومی منطقه کردستان به عنوان یک داروی جایگزین داروهای شیمیایی و ساختگی پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه رازی به دلیل حمایت های لازم تشکر و قدردانی به عمل می آید.

Refrences

1. Manal F, Abdelmalek AMD. Infiltrarative genetics and metabolic diseases of liver. 19th ed. Tehran: Arjmand, 2015: 207-15.
2. Wong V. Recent advances in the management of nonalcoholic fatty liver disease. Med Bull 2008; 13: 19–22.
3. Rafiq N, Younossi Z. Nonalcoholic fatty liver disease: A practical approach to evaluation and management. Clin Liver Dis 2009; 13: 249–66.
4. Clark JM, Brancati F, Diehl A. Nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 2002; 122: 1649–57.
5. Nguyen TD, Kang JH, Lee MS. Characterization of Lactobacillus plantar mph 04, apotential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. Int J Food Microbiol 2007; 113: 358–61.
6. Gill HK, Wu GY. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: Effects of weight loss and a review of popular diets. Are low carbohydrate diets the answer?. World J Gastroenterol 2006; 12: 345–53.
7. Schubert SY, Lansky EPH, Neeman I. Antioxidant and Eicosanoid Enzyme Inhibition Properties of Pomegranate Seed Oil and Fermented Juice Flavonoids. J Ethnopharmacol 2009; 66: 11-7.
8. Kullkarni AP, Aradhya SM. Chemical Changes and Antioxidant Activity in Pomegranate Arils during Fruit Development. Food Chem 2005; 93: 319-24.
9. Okamoto JM, Hamamoto YO, Yamato H, Yoshimura H. Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome pathak, S.B. "TLC Densitometric

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

method for the quantification of eugenol andgallic acid in Clove". Chromatographia 2004; 60: 241–4.
10. Pradeep B, Manojbabu M, Palaniswamy M. Antibacterial activity of punica granatum lagainst gastro intestinal tract infection causing organisms. Ethnobotanical Leaflets 2008; 12: 1085-89.
11. Juranek I, Bezek S. Controversy of free radical hypothesis: reactive oxygen species--cause or consequence of tissue injury?. Gen Physiol Biophys 2005; 24: 263-78.
12. Esmaeili MA, Sonbol A, Kanani MR, Sadeghi H, Karimian Pour N. Evaluation of the effect of Salvia sahendica on tissue damages induced by alcohol inoxidative stress conditions in the rat: Effect on liver and kidney oxidative parameters. Pharmaceutical Sci 2010; 15: 315-22.
13. Sharma P, Mc Clees SF, Afaq F. Pomegranate for prevention and treatment of cancer: an update. Molecules 2017; 22: pii: E 177.
14. Day CP. From fat to inflammation. Gastroenterology 2006; 130: 207-10.
15. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 2000; 130: 2073S-85S.

16. Malaguarnera G, Cataudella E, Giordano M, Nunnari G, Chisari G, Malaguarnera M. Toxic hepatitis in occupational exposure to solvents. World J Gastroenterol 2012; 18: 2756-66.
17. Obika M, Noguchi H. Diagnosis and evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. Exp Diabetes Res 2012; 2012: 145754.
18. Hicham El F, Ahmed Z, Fatiha B. Solar drying, hydroscopic equilibrium and biochemical quality of punica granatum legrelliae's flower. J Appl Bot Food Qual 2018; 91: 14-23.
19. Ahmed MM, Zaki NI. Assessment the ameliorative effect of pomegranate and rutinchlorpyrifos-ethylinduced oxidative stress in rats. Nat Sci 2009; 7: 49-61.
20. Zangeneh MM, Zangeneh A, Tahvilian R, Moradi R, Kiani K, Khalili M. Ethnomedicinal Plants: Evaluation of in vitro Antibacterial properties of Verbascum thapsus against Bacillus subtilis ATCC No. 21332. Int J Ayu Pharm Chem 2017; 6: 155-66.
21. Basiry-Jahromi S. Punica granatum(pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. Oncol Rev 2018; 12: 345.
22. Tang J, Li B, Hong S. Punicalagin suppresses the proliferation and invasion of cervical cancer cells through inhibition ß- catenin pathway. Mol Med Rep 2017; 16: 1439-44.
23. Moloudi MR, Hassanzadeh K, Rouhani S, Zandi F, Ahmadi A, Khalvatian P. et al. Effect of chloroformic extract of cichorium intybus on liver function tests and serum level on TNF-α I obstructive cholestasis in rat. SJKU 2014; 19: 10-19. [In Persian]
24. Hassanzadeh A, Shahvesi K, hassanzadeh K, Izadpanah I, Amini A. Moloudi M.R. Effects of ribampide and encapsulating ribampide with chitosan capsule on inflammatory mediators in rat experimental coloitis. SJKU 2015; 20: 90-104. [In Persian]
25. Nabavizadeh F, Moloudi M, Dehpour AR, Nahrevanian H, Shahveisi K, Salimi E. The effect of cholestasis and cirrhosis on gastric acid and pepsin secretion in rat: involvement of nitric oxide. Iran J Basic Med Sci 2010; 13: 207-12.
26. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sci 2006; 79: 1100-7.
27. Tahvilian R, Shahriari S, Faramarzi A, Komasi A. Ethno-pharmaceutical Formulations in Kurdish Ethno-medicine. Iranian J Pharm Res 2014; 13: 1029–39.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]

28. Ekhlasi G, Shidfar F, Agah S, Merat S, Hosseini KAF. Effect of pomegranate juice intake on lipid profile in patients with nonalcoholic fatty liver disease. RJMS 2013; 20: 39-40. [In Persian]
29. Osman HF, Eshak MG, El-Sherbiny EM, Bayoumi MM. Biochemical and genetical evaluation of pomegranate impact on diabetes mellitus induced by alloxan in female rats. Life Sci J 2012; 9:1543-55.
30. Sadeghipour A, Eidi M, Kavgani AI, Ghahramani R, Shahabzadeh S, Anissian A. Lipid lowering effect of Punica granatum L. Peel in high lipid diet fed male rats. Evid Based Compl Alt 2014; 2017: 1-5.
31. Al-Shaaibi SNK, Waly ML, Al-sobhi L, Tageldin MH, Al-balushi NM, Rahman MS. Ameliorative Effects of Pomegranate Peel Extract against Dietary-Induced Nonalcoholic Fatty Liver in Rats. Prev Nutr Food Sci 2016; 21: 14-23.
32. Abdel- Razik HF, Enayat AO, Asma AG, Sayed AEL. Antifibrotic effects of punica granatum peels through simulation of hepatic stellate cell apoptosis in thioacetamide- induced liver fibrosis in rat. J Arab Soc Med Res 2017; 12: 56-67.
33. Hassan NF, Soliman GM, Okasha EF, Shalaby AM. Histological, immunohistochemical and biochemical study of experimentally induced fatty liver in adult male albino rat and the possible protective role of pomegranate. J Microsc Ultrastruct 2017; 129; 1-14.
34. Kumar KP, Reddy VR, Prakash MG. Effect of supplementing pomegranate (punica granatum) peel extract on serum biochemical parameters and immune response in broiler during summer. Pharma Innovation 2018; 7: 591-601.
35. Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L, et al. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL Oxidation. Clin Nutr 2004; 23: 423-33.
36. Khateeb J, Gantman A, Kreitenberg AJ, Aviram M, Fuhrman B. Paraoxonase 1 (PON1) expression in hepatocytes is upregulated by pomegranate polyphenols: a role for PPAR-γ pathway. Artherosclerosis 2010; 208: 119-25.
37. Mozaffari H, Mozayan MR, Yazd I. Effect of pomegranate juice on paraoxonase enzyme activity in patientswith type 2 diabetes. J Diabetes Metab Disorders 2012; 11: 11.
38. Amouoghli Tabrizi B, Mohager D. Preventive effects of Green Tea extract from hepatic steatosis in the Rats fed wit high fat Diet. RJMS 2015; 2: 125-140. [In Persian]

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: 10.52547/sjku.23.3.45]