

ORIGINAL ARTICLE

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

Sedigheh Asgari¹,
Roya Ansari Samani²,
Fatemeh Deris²,
Najmeh Shahinfard²,
Maryam Salimi²,
Seifollah Mortazaei²,
Samira Asgharzadeh²,
Hedayatollah Shirzad²,
Mahmoud Rafeiean-kopaei²

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 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, hypercholesterol diet (1%) or hypercholesterol 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 $52.1 \pm 3.3\%$ 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

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 بیماری های قلبی - عروقی به شمار می رود. برخی از گزارشات حاکی از اثر حفاظتی موسیر بر سیستم قلب و عروق می باشد. لذا در این مطالعه ضمن اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی موسیر، اثر آن بر میزان فیبرینوژن و فاکتور VII در خرگوش های مصرف کننده کلسترول بالا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در یک مطالعه مداخله ای 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 گروه های مختلف با یکدیگر مقایسه شدند. ظرفیت آنتی اکسیدانی موسیر نیز با روش مدل بتاکاروتن لینولئات اندازه گیری شد.

یافته ها: پس از دو ماه مصرف رژیم های خاص، میزان فیبرینوژن و فاکتور VII در گروه پر کلسترول به ترتیب ۲۶/۷ mg/dl \pm ۳۲۹/۲۲ و ۱۷/۱ و ۲۷۷/۷ \pm بود که نسبت به رژیم پایه (به ترتیب ۱۳/۷ mg/dl \pm ۲۸۷/۲۵ و ۱۸/۲ \pm ۲۳۰/۰) افزایش معنی داری پیدا کرده بودند ($p < ۰/۰۵$). این دو فاکتور در گروه پر کلسترول با موسیر به ترتیب ۲۳/۹ mg/dl \pm ۱۸۰/۰ و ۵۳/۳ \pm ۲۳۷/۰ بود که نسبت به رژیم پر کلسترول کاهش معنی داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). در این مطالعه ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره موسیر با غلظت ۰/۲ g/L معادل ۳/۳ \pm ۵۲/۱ درصد حاصل گردید. همچنین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در گروه موسیر+ پر کلسترول ۲۴۹/۵۱ μ M \pm ۹۴۳/۹۰۷ به مراتب بیشتر از گروه پایه (معمولی) ۱۳۰/۷۳ μ M \pm ۶۲۹/۶۷۵ به دست آمد.

استنتاج: موسیر در خرگوش های هایپرکلسترولمیک باعث کاهش فاکتور VII و فیبرینوژن می شود و احتمالاً با کاهش عوامل انعقادی می تواند اثرات مفیدی در کاهش ریسک فاکتورهای بیماری های قلبی - عروقی داشته باشد. در ضمن این اثرات باید در بیمارانی که کم یا زیاد شدن ظرفیت انعقادی آن ها حائز اهمیت است، مد نظر قرار گیرد.

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

مقدمه

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

E-mail: rafieian@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمود رفیعیان کوپائی - مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، راحتمیه

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 و آموزش 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 دخالت‌کننده در بیماری‌های قلبی-عروقی شناخته شده‌اند. 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 در صورت 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 بافت‌های 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 ۲۵۰ mg/dl می‌باشد. میزان فیبرینوژن پلاسما در بیماری‌های التهابی، بدخیمی و کبدی افزایش می‌یابد (۹). افزایش فیبرینوژن پلاسما می‌تواند پیش در آمد 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 (۱۱،۱۲). 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 (۱۴،۱۵). چندین مطالعه رابطه بین میزان فیبرینوژن پلاسما و شدت بیماری عروق کرونر را در آثروگرافی 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 فعال‌کننده پلاسمینوژن بافتی (TPA) و مهارکننده فعال‌کننده 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 کنترل‌کننده و پیشگیری‌کننده از ایجاد پلاک‌های

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 و آموزش 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 دخالت‌کننده در بیماری‌های قلبی-عروقی شناخته شده‌اند. 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 در صورت 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 بافت‌های 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

هیپوکلسترولمیک آن و تأثیر ظرفیت هموستاتیک خون بر آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی، در صورتی که این گیاه باعث کاهش فاکتورهای هموستاتیک شود، می‌تواند در بیماری‌های قلبی-عروقی بسیار مفید باشد. نظر به این که این گیاه به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان 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 جمع آوری 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 سانتی‌گراد 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 سانتی‌گراد خشک شد (۳۲).

گروه بندی و تیمار خرگوش‌ها

در یک بررسی مداخله‌ای ۲۴ سرخرگوش نر سفید نیوزیلندی با وزن $12/9 \pm 20/1$ گرم از انستیتو رازی

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 تره‌فرنگی 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 ارگانوسولفور 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 گلوکوتایون 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 پیتید 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 می‌شود و تجویز این گیاه بر میزان تری‌گلیسیرید 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

کرج خریداری و در لانه حیوانات مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد 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 به دست آمده پس از آسیاب نمودن کلاسترول 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 پرکلاسترول (۱ درصد)، رژیم پرکلاسترول (۱ درصد) + عصاره موسیر (۱ g/kg BW) (۳۲). در گروه پرکلاسترول 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 هایپرکلاسترولمی شدن حیوانات یک گروه در کنار مطالعه برای اندازه‌گیری کلاسترول توتال و لیپوپروتئین‌های مربوطه (HDL, LDL, VLDL) در نمونه خونی آن‌ها قرار گرفت.

سنجش سطح کلاسترول 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 لینولات

جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش GORINSTEIN و همکاران استفاده شد. مقدار ۰/۲ میلی گرم بتا کاروتن در ۰/۲ میلی لیتر کلروفرم حل گردید. به این امولسیون ۲۰ میلی گرم لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ اضافه شد. مقدار ۴۰ میلی لیتر آب اشباع از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰ میلی لیتر 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 به دست آمده به عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در نظر گرفته شد.

فرمول ۱

$AA = 100 [1 - (A_0 - A_t) / (A_0 - A_0^0)]$ که A_0^0 و A_0 نشان دهنده جذب نوری در زمان صفر و A_t ، A_0^0 جذب نوری در زمان‌های مختلف طی ۱۸۰ دقیقه برای نمونه و کنترل می باشند (۳۳).

اندازه‌گیری میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما

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

بر اساس روش دکتر حیدریان و همکاران اندازه گیری شد. احیاء یون فریک به فرو در حضور آنتی اکسیدانها باعث ایجاد کمپلکس رنگی فروتری پیریدیل تری آزین می شود که در ۵۹۳ نانومتر دارای حداکثر جذب نوری است. جهت رسم منحنی استاندارد از $FeSO_4$ در محدوده ۱۰ 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 میلی مولار، 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 پلاسما هر نمونه ۲۵ میکرولیتر در لوله های تمیز ریخته شد و به هر لوله از محلول کار به میزان ۱/۵ میلی لیتر اضافه گردید (یک لوله آزمایش هم برای بلانک آماده شد که به جای نمونه به آن آب مقطر اضافه گردید). سپس لوله ها به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد 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 گروه های آزمایشی از آزمون کروسکال-والیس و دان استفاده شد ($p < 0/05$)، که از نظر آماری معنی دار تلقی شد.

یافته ها

نتایج این مطالعه نشان داد که در ابتدای دوره مقدار فاکتورهای بیوشیمیایی در بین گروه های مورد مطالعه تفاوت معنی داری نداشتند ($p > 0/05$). مقایسه میزان فیبرینوژن خون در گروه های رژیم پایه (معمولی) و رژیم پر کلسترول (۱ درصد) نشان داد که میزان فیبرینوژن در گروه پر کلسترول نسبت به رژیم پایه افزایش معنی داری داشته است ($p < 0/05$).

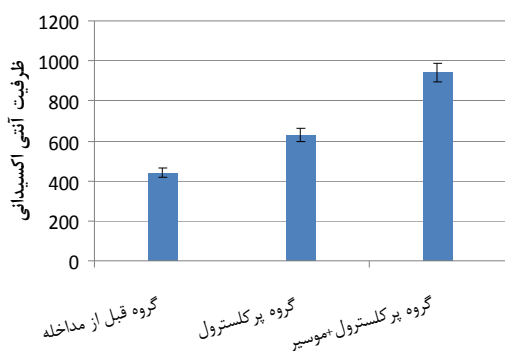
همچنین در گروه پر کلسترول + موسیر کاهش معنی داری نسبت به رژیم پر کلسترول مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول شماره ۱). میزان فاکتور VII نیز در گروه پر کلسترول نسبت به رژیم پایه افزایش معنی داری داشت ($p < 0/05$) و در گروه پر کلسترول + موسیر کاهش معنی داری نسبت به رژیم پر کلسترول مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول شماره ۱).

در این مطالعه ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره موسیر با غلظت ۰/۲ g/L معادل $0/3 \pm 52/1$ درصد به دست آمد همچنین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما گروه موسیر + پر کلسترول $249/51 \pm 243/907$ و به مراتب بیشتر از گروه پایه (معمولی) $130/73 \pm 629/675$ μM به دست آمد. نتایج نشان داد که بین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی گروه موسیر + پر کلسترول ($249/51 \pm 243/907$ μM) و ظرفیت آنتی اکسیدان نمونه های قبل از مداخله ($440/089 \pm 99/99$ μM) ارتباط معنی داری وجود دارد ($p < 0/001$).

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

رژیم	فیبرینوژن \pm انحراف معیار	فاکتور VII \pm انحراف معیار
پایه (معمولی)	$287/25 \pm 137$	$230/0 \pm 182$
پر کلسترول (۱ درصد)	$329/22 \pm 2678a$	$277/7 \pm 171a$
پر کلسترول (۱ درصد) + موسیر	$180/0 \pm 2379b$	$237/0 \pm 5232b$

a: $p < 0/05$ در مقایسه با گروه رژیم پایه
b: $p < 0/05$ در مقایسه با گروه رژیم پر کلسترول



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 و با کاهش لخته شدن خون به وسیله کاهش فیبرینوژن، مهار تجمع پلاکت‌ها و افزایش 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 در سال 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 می‌گردد) و باعث فعال کردن پروتئین‌های 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 گلو تاریل 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 و سطح 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، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و محافظت 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 این که موسیر واجد اثرات دارویی متعددی نظیر خواص آنتی‌اکسیدانی است (۳۹) باعث می‌شود پلی‌فنل‌ها 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 توجیه‌کننده 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 سیستمی می‌تواند از این نظر مؤثر باشد (۴۱). به علاوه مشخص شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی این گروه از مواد از طریق 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 دی‌آلدئید و هیدروپراکسید می‌باشند (۴۲). از طرفی دیگر، بخشی از اثرات مشاهده شده مصرف این گیاه در بررسی حاضر را باید به درصد بالای آنتوسیانین‌ها با خواص محافظت‌کننده نسبت داد (۴۱). از این رو با مهار کردن فعالیت‌های انعقادی و التهابی پلاکت‌ها احتمالاً می‌توان از بروز آترواسکلروز و

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.

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 همین‌طور 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

References

- Braun W. Heart disease, a textbook of cardiovascular medicine. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2001. p. 1210-1215.
- Valentin Fuster H. The Heart. 10th ed. New York: Mc Graw Hill; 2001. p. 1065-1095.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N Eng J Med 1997; 337(5): 336.
- Perna AF, De Santo NG. Homocysteine. In: Kopple JD, Massary SG, editors. Kopple and Massary's Nutritional Management of Renal Disease. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 117-123.
- Majerus PW, Tollefsen DM. Anticoagulant, thrombolytic and antiplatelet drugs. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2001. p. 1519-1538.
- Bialecka M. The effect of bioflavonoids and lecithin on the course experimental atherosclerosis in rabbits. Ann Acad Med Stetin 1997; 43: 41-56.
- Varga Z, Czompa A, Kakuk G, Antus S. Inhibition of the superoxide anion release and hydrogenperoxid formation in PMNLs by flavonolignans. Phytother Res 2001; 15(7): 608.
- Utterman G. The mysteries of lipoprotein (a). Science 1989; 246: 904-910.
- Podolsky DK, Isselbacher KJ. Derangements of hepatic metabolism. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Harrison S, editors. Harrison's principles of internal medicine. 14th ed. New York: McGraw Hill; 1998. p. 1667-1672.
- 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.
- Ernst E. Plasma fibrinogen: an independent cardiovascular risk factor. J Intern Med 1990; 227(6): 365-372.
- 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, Leelarugayub 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, Shabaniyan 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 1 activation. *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.