

The effect of hydroalcoholic extract of anise on the activity of liver enzymes in rats on a high-fat diet

Shayan Eivazzade¹, Gholamali Naderi^{2*}, Narges Haddadzadeh-Niri³, Mehrdad Roghani⁴

1. School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Department of Biochemistry, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
3. Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
4. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: naderi@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: High-cholesterol diet and ensuing inflammation cause liver disorders and damage. Considering the anti-inflammatory and antioxidant properties of the anise plant, the effect of its hydroalcoholic extract on the activity of liver enzymes was assessed in rats under a high-cholesterol diet.

Materials and Methods: In this experimental study, rats were divided into control, extract-treated control, high cholesterol diet, and extract-treated high cholesterol diet. After 8 weeks, that the control groups received normal food and the high-fat groups received high-cholesterol food, treated groups also received extract at a dose of 250 mg/kg (i.p.) for 3 weeks and consumption of high-cholesterol diet continued till the end of study. At the end, after obtaining blood samples, serum activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) enzymes was measured. One-way ANOVA and Tukey's post-hoc tests were used for the statistical analysis of data.

Results: High-cholesterol diet significantly increased serum activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase. Conversely, extract treatment of the group under a high-cholesterol diet caused a significant decrease in the activity of these enzymes.

Conclusion: Consumption of anise hydroalcoholic extract under a high-cholesterol diet reduces the serum level of liver enzymes and this may lower the incidence of liver diseases.

Keywords: Anise, Inflammation, Aminotransferase, Alkaline phosphatase, High-cholesterol diet

Received: Feb 05, 2023

Revised: May 31, 2023

Accepted: Jul 22, 2023

How to cite this article: Mahmoudi A, Naderi GH, Haddadzadeh-Niri N, Roghani M, The effect of hydroalcoholic extract of anise on the activity of liver enzymes in rats on a high-fat diet. *Daneshvar Medicine* 2023; 31(3):45-54. doi: 10.22070/DANESHMED.2023.17341.1321

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

اثر عصاره آبی الکی انیسون بر فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی تحت رژیم غذایی پرچرب

شایان عیوض زاده، غلامعلی نادری^{۱*}، فرگس حدادزاده نیری^۲، مهرداد روغنی^۴

۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۴. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

Email: naderi@shahed.ac.ir

*نویسنده مسئول: غلامعلی نادری

چکیده

مقدمه و هدف: مصرف رژیم غذایی پرکلسترول و التهاب ناشی از آن موجب بروز اختلالات و آسیب کبدی می‌شود. با توجه به خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی گیاه انیسون (Anise)، در این مطالعه اثر عصاره آبی-الکی این گیاه بر فعالیت آنزیم‌های کبدی در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌ها به چهار گروه کنترل، کنترل دریافت‌کننده عصاره، پرکلسترول، و پرکلسترول و دریافت‌کننده عصاره تقسیم شدند. پس از ۸ هفته، (که گروه‌های کنترل غذای معمولی و گروه‌های پرچرب غذای پرکلسترول دریافت کردند)، گروه‌های تحت درمان، با عصاره انیسون به میزان ۲۵۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی به مدت ۳ هفته و روزانه درمان شدند و دریافت رژیم پرکلسترول تا پایان کار ادامه داشت. در پایان کار، سنجش سرمی شاخص‌های عملکرد کبد شامل آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و نیز شاخص لاکتات دهیدروژناز انجام شد. داده‌ها از نظر آماری با آزمون آنوای یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی آنالیز شدند.

نتایج: رژیم غذایی پرکلسترول باعث افزایش بارز و معنادار سطح سرمی فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و نیز شاخص لاکتات دهیدروژناز شد. از طرف دیگر، تیمار گروه پرچرب با عصاره انیسون موجب کاهش سودمند و معنادار فعالیت این آنزیم‌ها شد.

نتیجه‌گیری: مصرف عصاره آبی-الکی انیسون موجب کاهش سطح سرمی فعالیت آنزیم‌های کبدی به دنبال دریافت رژیم پرکلسترول می‌شود و این احتمالاً در کاهش ابتلا به آسیب و بیماری‌های کبدی می‌تواند سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: انیسون، التهاب، آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، رژیم پرکلسترول

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۱۰

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۱

مقدمه

کبد یک اندام متابولیک حیاتی برای بیوسنتز، پردازش و حذف لیپید است. این لیپیدها معمولاً از رژیم غذایی، لیپوژنز *de novo* یا لیپولیز بافت چربی به دست می‌آیند. استئاتوز کبدی یا کبد چرب اغلب خوش‌خیم است، اما می‌تواند به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)^۱ تبدیل شود که با آسیب سلولی کبدی و التهاب و نکروز مشخص می‌شود. NASH ممکن است به سیروز، نارسایی کبدی در مرحله پایانی و سرطان سلولی کبدی پیشرفت کند که شایع‌ترین دلیل نارسایی نهایی کبدی در جوامع غربی است. افزایش سنتز کلسترول همراه با کاهش حذف کلسترول یا مصرف بیش‌ازحد کلسترول غذایی منجر به تجمع کلسترول آزاد (Free Cholesterol) در کبد می‌شود. تجمع FC در سلول‌های کبدی اغلب باعث استرس اکسیداتیو میتوکندری می‌شود، سلول‌های کبدی را به سایتوکین‌های پیش‌التهابی حساس می‌کند و بعداً منجر به مرگ سلولی می‌شود. فرارگرفتن در معرض و تجمع FC در ماکروفاژهای ساکن کبد، که سلول‌های کوپفر نامیده می‌شوند، باعث التهاب کبد می‌شود (۱). در دو دهه گذشته، تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که تجمع کلسترول اضافی در بافت‌ها و اندام‌های مختلف نقش مهمی در پاتوژنز بیماری‌های متعدد ایفا می‌کند. درعین حال سمیت القاشده توسط کلسترول اضافی در همه‌جا وجود دارد. این مفهوم به گسترش درک اثر سمی کلسترول اضافی کمک می‌کند و بنابراین به‌طور بالقوه استفاده درمانی از داروهای کاهش‌دهنده کلسترول را گسترش می‌دهد (۲). این اختلال به دلایل مختلفی همچون مسائل ژنتیک و یا سبک زندگی ناصحیح ایجاد می‌شود که در نهایت می‌تواند منجر به بروز بیماری‌های شریان‌های کرونری (CAD)^۲، سکنه مغزی (CVA)^۳ و بیماری عروق محیطی (PVD)^۴ شود. بالارفتن میزان سرمی چربی‌ها می‌تواند منجر به تشکیل پلاک‌های آترواسکلروز در سرخرگ‌های کرونری شده که در حضور سایر عوامل خطر، تشکیل آن تسریع می‌شود. این اختلال به‌عنوان یکی از بیماری‌های مزمن

غیرواگیر در نظر گرفته شده، که دارای بار اقتصادی فراوانی بر دولت‌ها و سلامت اجتماعی است (۳). آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در بافت‌های مختلف از جمله سرم مشاهده می‌شوند و مقدار سرمی آنها در بیماری‌های مختلف به‌ویژه در اختلالات کبدی افزایش می‌یابد. در همین راستا، آنزیم AST، یکی از آنزیم‌های گروه ترانسفرازها بوده که (۴) سطح آن معمولاً برای بررسی وضعیت کبد حائز اهمیت است. این تست معمولاً همراه تست‌های دیگری همچون ALP، ALT، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و بیلی‌روبین (Bilirubin) درخواست می‌شود. زمانی که کبد آسیب دیده است، معمولاً قبل از آنکه علائم بارزتر آسیب کبدی مانند زردی رخ دهد، این آنزیم در داخل جریان خون آزاد می‌شود. این امر اندازه‌گیری AST و ALT را یک آزمایش مفید برای تشخیص آسیب کبدی می‌سازد. آسیب‌های کبدی می‌توانند به دنبال دلایلی همچون کبد چرب، مسمومیت کبدی ناشی از داروها، مسمومیت با سموم هپاتوتوکسیک‌ها، انواع هپاتیت‌ها از جمله هپاتیت ویروسی و اتوایمیون باشد (۵).

گیاه انیسون یا بادیان رومی *Pimpinella anisum* از خانواده *Apiaceae* بوده (۶) که دارای خواص متعددی همچون آنتی‌باکتریایی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و حفاظتی است. این گیاه همچنین دارای خواص طعم‌دهنده، نگهدارنده و آرام‌بخش است (۷-۱۱). در همین راستا با توجه به افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در اثر مواد التهاب‌زا همچون رژیم پرچرب، در رابطه با اثرات بالقوه عصاره گیاه انیسون بر کاهش سطح سرمی این آنزیم‌ها و در نتیجه کاهش احتمال پیشرفت التهاب و بیماری کبدی، در این مطالعه طی انجام یک آزمایش تجربی روی حیوانات آزمایشگاهی، تأثیر عصاره آبی-الکلی انیسون بر سطح آنزیم‌های کبدی موجود در سرم موش دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش آزمایشگاهی بزرگ نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزن ۱۹۰-۲۲۰ گرم مورد

¹ Non-alcoholic Steohepatitis

² Coronary Artery Disease

³ Cerebro Vascular Accident

⁴ Peripheral Vein Disease

۱۰۰ گرم پودر دانه خشک گیاه انیسون در ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول خیسانده شد و بعد از ۷۲ ساعت توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و با استفاده از دستگاه بنماری در دمای ۷۰ درجه آب آن جدا شد. سپس عصاره لیوفیلیزه تهیه شد و پودر خشک عصاره تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه در یخچال نگهداری شد (۱۳).

سنجش سطح سرمی لاکتات دهیدروژناز (LDH)

برای اندازه‌گیری LDH از کیت تشخیص کمی LDH در سرم یا پلاسما مربوط به شرکت (پارس آزمون، تهران، ایران) استفاده شد. این کیت برای اندازه‌گیری LDH تا تغییرات جذب نوری ۰/۱۵ در دقیقه (به صورت دومحلوله تا ۳۰۰۰ و تک‌محلوله تا ۲۴۰۴ واحد بین‌المللی در لیتر) طراحی شده است. در مواردی که مقدار تغییرات جذب نوری بیش از ۰/۱۵ در دقیقه باشد، باید نمونه به نسبت ۱ به علاوه ۱۰ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۱۱ ضرب شود. جذب نهایتاً در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانده می‌شود.

سنجش سطح سرمی آنزیم‌های عملکرد کبد (AST, ALT, ALP)

خون‌هایی که از موش‌ها در پایان آزمایش گرفته شد، در لوله‌های آزمایش ریخته شد و اجازه داده شد تا روند انعقاد کامل شود. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه لوله‌های حاوی خون لخته‌شده در سانتیفریوژ قرار داده شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) تا سرم به‌طور کامل جدا شود. در نهایت سرم مربوط به هر موش را سریعاً در میکروتیوب جداگانه ریخته و به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد تا بعداً ارزیابی‌های مورد نظر روی آن انجام شود. در این مطالعه مارکرهای سرمی مربوط به عملکرد کبد از قبیل AST، ALT و ALP با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفت.

استفاده قرار گرفت. موش‌ها در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات دانشگاه شاهد در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد با شرایط روشنایی و تاریکی طبیعی در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات به‌طور آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش تهیه‌شده از شرکت خوراک دام پارس دسترسی داشتند. روش نمونه‌گیری تصادفی و ابزار گردآوری داده‌ها شامل آزمایشات تجربی بود.

موش‌ها به‌صورت تصادفی به ۴ گروه مساوی شامل کنترل با رژیم غذایی عادی، کنترل با رژیم غذایی عادی و تیمار با عصاره انیسون، پرچرب دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترول و پرچرب تحت تیمار با عصاره انیسون تقسیم شدند. به گروه‌های کنترل غذای معمولی به مدت ۱۱ هفته داده شد. گروه‌های پرچرب به مدت ۱۱ هفته غذای پرکلسترول (کلسترول ۱ درصد و اسیدکولیک ۰/۲۵ درصد) دریافت کردند (۱۲). پس از ۸ هفته به گروه‌های تیمار شده، عصاره انیسون با دوز ۲۵۰ mg/kg به مدت ۳ هفته و روزانه به‌طور داخل صفاقی تزریق شد (۱۳).

بررسی‌های بیوشیمیایی

در انتهای زمان تغذیه با رژیم پرچرب و نیز تزریق عصاره‌ها به گروه‌های تحت درمان، خون‌گیری و ریدی از تمام موش‌ها انجام شده و پس از سانتیفریوژ، نمونه‌های سرم‌ها جهت انجام آزمایشات و آنزیم‌های سلولی در فریزر نگهداری شد. سپس سرم به‌دست‌آمده از نظر سطح آنزیم‌های AST، ALP، ALT (همچنین LDH) مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. تمامی نمونه‌های خون جمع‌آوری شده پس از شماره‌گذاری شدن و انجام جهت بررسی‌های آزمایشگاهی به آزمایشگاه ساختمان مراکز تحقیقاتی دانشگاه شاهد انتقال داده شد.

روش تهیه عصاره گیاه

گیاه انیسون از مرکز فروش گیاهان دارویی در تهران تهیه و کد هر بار یوم گیاه (SUMS=8062) نیز از دانشگاه شهید بهشتی اخذ شد. عصاره گیری از بخش هوایی شامل میوه و برگ و دانه گیاه انیسون انجام شد. استخراج عصاره آبی الکلی انیسون به روش ماسراسیون انجام شد. در این روش

آنالیز آماری

آماري تفاوت معنادار بين گروه‌ها در پايان کار به دست نیامد.

تمامی داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شدند. نتایج از آزمون آماری پارامتریک آنوای یک‌طرفه و در صورت اختلاف معنادار از آزمون توکی استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها در برنامه SPSS21 انجام شد. برای رسم نمودارها از برنامه اکسل استفاده شد. در مورد کلیه یافته‌ها اختلاف در سطح ($p < 0/05$) به عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شد.

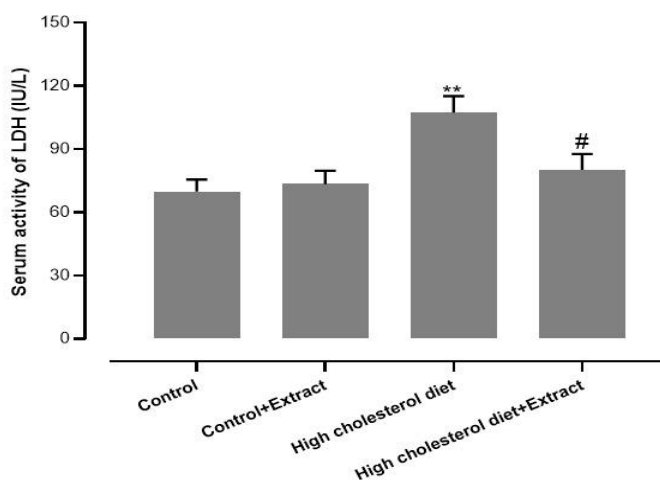
نتایج سنجش سطح سرمی لاکتات دهیدروژناز (LDH)

طبق نمودار ۱ و جدول ۱ با اندازه‌گیری میزان آنزیم LDH به عنوان شاخص معتبر آسیب سلولی کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که بین گروه کنترل و کنترل و دریافت عصاره تفاوت واضح و معناداری وجود ندارد. اما در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترول، افزایش معنادار آنزیم LDH نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0/01$). به علاوه یک کاهش معنادار آنزیم LDH در گروه پرکلسترول تحت تیمار با عصاره انیسون نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول به دست آمد ($p < 0/05$).

نتایج

تغییرات وزن

در ابتدای کار تغییر معنادار از نظر وزن بین گروه‌ها از نظر آماری وجود نداشت. در گروه‌های کنترل، کنترل دریافت‌کننده عصاره، پرکلسترول، و پرکلسترول تحت تیمار با عصاره انیسون در پایان کار یک افزایش محسوس وزن بدن به ترتیب در حد ۴۷/۸ درصد، ۴۲/۳ درصد، ۵۱/۳ درصد و ۴۸/۵ درصد مشاهده شد. باین وجود از نظر

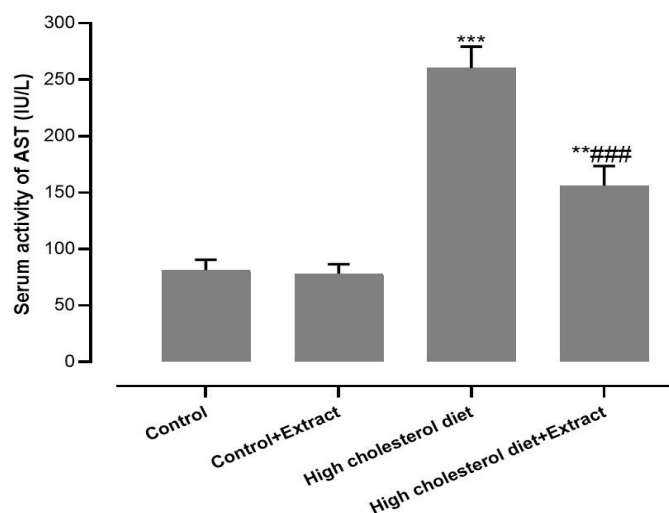


نمودار ۱. نتایج مربوط به میزان LDH سرم در گروه‌های تحت بررسی برحسب IU/L
*** $p < 0/01$ مقایسه با گروه کنترل # $p < 0/05$ مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول

نتایج سنجش فعالیت آنزیم AST

طبق نمودار ۲ و جدول ۱ با سنجش میزان فعالیت آنزیم AST در موش‌ها به عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد، در گروه‌های مختلف مشخص شد که بین گروه کنترل و کنترل و دریافت عصاره تفاوت واضح و معناداری وجود ندارد اما در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترول، افزایش معنادار فعالیت آنزیم AST نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0/01$). همچنین یک افزایش معنادار فعالیت آنزیم AST در حد کمتر در گروه پرکلسترول تحت تیمار با عصاره انیسون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/01$). به علاوه یک کاهش معنادار فعالیت آنزیم AST در همین گروه نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول به دست آمد ($p < 0/01$).

در موش‌ها به عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد، در گروه‌های مختلف مشخص شد که بین گروه کنترل و کنترل و دریافت عصاره تفاوت واضح و معناداری وجود ندارد اما در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترول، افزایش معنادار فعالیت آنزیم AST نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0/01$). همچنین یک افزایش معنادار فعالیت آنزیم AST در حد کمتر در گروه پرکلسترول تحت تیمار با عصاره انیسون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/01$). به علاوه یک کاهش معنادار فعالیت آنزیم AST در همین گروه نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول به دست آمد ($p < 0/01$).

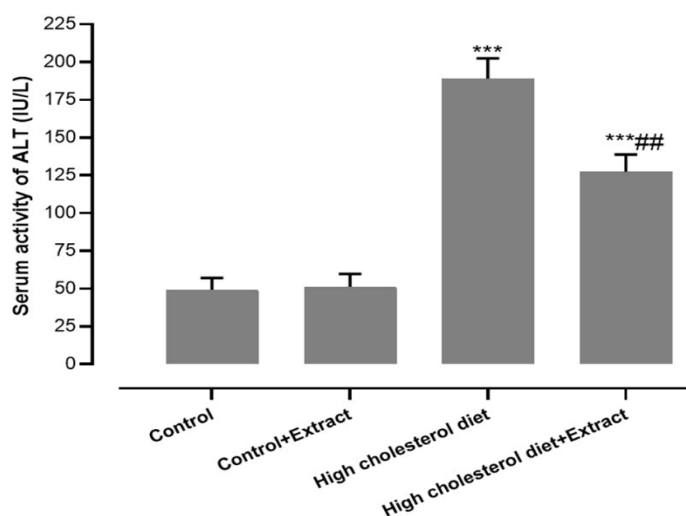


نمودار ۲. نتایج مربوط به سنجش میزان آنزیم AST برحسب IU/L در گروه‌های تحت بررسی
 *** $P < 0/01$ مقایسه با گروه کنترل **** $P < 0/001$ مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول
 #### $P < 0/0001$ مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول

نتایج سنجش فعالیت آنزیم ALT

آمد ($p < 0/001$). همین افزایش معنادار فعالیت آنزیم ALT در گروه پرکلسترول تحت تیمار با عصاره انیسون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/001$). به علاوه یک کاهش معنادار فعالیت آنزیم ALT در حد کمتر در همین گروه نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول به دست آمد ($p < 0/01$).

طبق نمودار ۳ و جدول ۱ با سنجش میزان فعالیت آنزیم ALT در موش‌ها به عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد، در گروه‌های مختلف مشخص شد که بین گروه کنترل و کنترل و دریافت عصاره تفاوت واضح و معناداری وجود ندارد. اما در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترول، افزایش معنادار فعالیت آنزیم ALT نسبت به گروه کنترل به دست

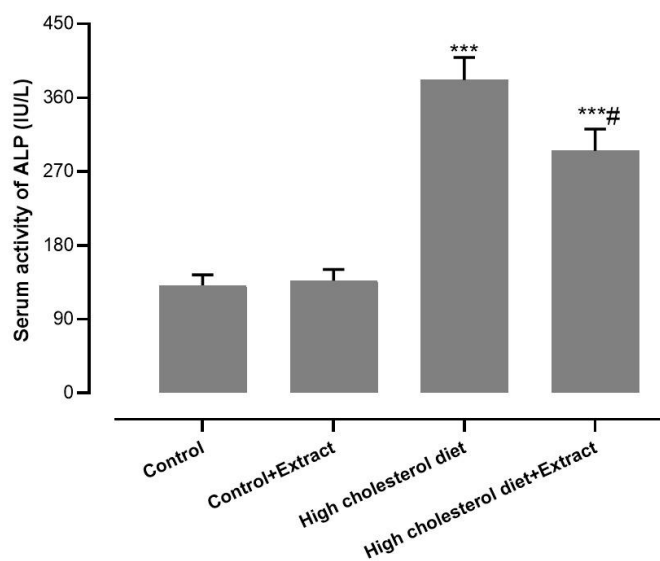


نمودار ۳. نتایج مربوط به سنجش میزان آنزیم ALT برحسب IU/L در گروه‌های تحت بررسی
 *** $p < 0/001$ مقایسه با گروه کنترل ## $p < 0/01$ مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول
 **** $p < 0/0001$ مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول

نتایج سنجش فعالیت ALP

آمد ($p < 0.001$). همین افزایش معنادار فعالیت آنزیم ALP در گروه پرکلسترویل تحت تیمار با عصاره انیسون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.001$). به علاوه یک کاهش معنادار فعالیت آنزیم ALP در حد کمتر در همین گروه نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترویل به دست آمد ($p < 0.05$).

طبق نمودار ۴ و جدول ۱ با سنجش میزان فعالیت آنزیم ALP در موش‌ها به عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد، در گروه‌های مختلف مشخص شد که بین گروه کنترل و کنترل و دریافت عصاره تفاوت واضح و معناداری وجود ندارد. اما در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترویل، افزایش معنادار فعالیت آنزیم ALP نسبت به گروه کنترل به دست



نمودار ۴. نتایج مربوط به سنجش میزان آنزیم ALP برحسب IU/L در گروه‌های تحت بررسی
 ****# = مقایسه با گروه کنترل $p < 0.001$ =# مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم پرکلسترویل $p < 0.05$

جدول ۱. نتایج مربوط به فاکتورهای سنجش شده در تحقیق

	Control	Control+Extract	High cholesterol diet	High cholesterol diet+Extract
ALT	49.3±7.8 Min:28.7 Max:69.8	51.2±8.5 Min:29.7 Max:72.7	189.1±13.4 Min:155.2 Max:222.7	127.5±11.3 Min:98.6 Max:156.2
AST	81.4±9.2 Min:57.9 Max:104.8	78.3±8.4 Min:57.1 Max:99.6	260.5±18.7 Min:212.6 Max:308.5	156.2±17.3 Min:110.6 Max:201.8
ALP	131.4±12.9 Min:99.5 Max:163.7	137.2±13.5 Min:102.3 Max:171.9	381.7±27.3 Min:310.6 Max:452.7	295.3±26.5 Min:227.3 Max:363.5
LDH	69.8±5.7 Min:55.9 Max:83.8	73.4±6.3 Min:56.9 Max:89.8	107.3±7.8 Min:88.4 Max:126.2	80.1±7.5 Min:61.6 Max:98.7

بحث

کلسترول بیش‌ازحد در رژیم غذایی ترجیحاً در کبد ذخیره می‌شود و باعث ایجاد استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) می‌شود که با التهاب کبدی و فیبروز پیشرونده مشخص می‌شود. شواهد در حال ظهور نشان‌دهنده نقش مهم ماکروفاژهای کبدی در شدت NASH است. یافته‌ها نشان می‌دهد که تغییرات ناشی از مصرف طولانی‌مدت کلسترول بالا باعث آسیب طولانی‌مدت کبدی می‌شود و باعث گسترش جمعیت ماکروفاژهای ترمیمی ناکارآمد پروفیبروتیک حتی پس از کاهش کلسترول خواهد شد (۱).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر مصرف رژیم غذایی پرکلسترول باعث افزایش معنادار تست‌های کبدی مانند ALT, AST و ALP و نیز سطح LDH سرم شد. در همین راستا در مطالعه‌ای که Wiebin Qian و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام دادند آنها دریافتند که رژیم پرکلسترول باعث افزایش قابل توجه ALP و ALT در سرم خون شد. نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد (۱۵). در مطالعه‌ای که Csaba Csonka و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام دادند، اثر رژیم غذایی پرکلسترول بر کبد و پانکراس را بررسی کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که رژیم پرکلسترول باعث افزایش قابل توجهی در میزان سطح ALP سرم شد. در صورتی که افزایش سطح سرمی ALT و AST بسیار جزئی بود. نتایج این مطالعه در زمینه ALP با یافته‌های ما هم‌راستا است (۱۶). در مطالعه‌ای که Abukhalil و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، اثر استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از رژیم غذایی پرکلسترول بر کبد را بررسی کردند. آنها دریافتند که تغذیه با رژیم پرکلسترول باعث افزایش ترانس آمینازهای سرم، سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، ALP و LDH شد. نتایج حاصله با یافته‌های تحقیق حاضر همسو است (۱۷). در مطالعه‌ای که Doo Jin Choi و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند اثر محافظتی مخلوطی از گون و عصاره لیتوسپرموم erythrorhizon در برابر استئاتوز کبدی در موش‌های

سوری کبد چرب غیرالکلی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را بررسی کردند. آنها دریافتند که رژیم غذایی پرچرب باعث آسیب کبد و افزایش سطوح سرمی تست‌های کبدی و همچنین LDH شد. نتایج مذکور از یافته‌های تحقیق حاضر پشتیبانی می‌کند (۱۸).

نتایج تحقیق ما نشان داد که عصاره گیاه انیسون اثر مہاری بر پیشرفت آسیب کبد در گروه‌های دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول دارد. به این گونه که سطح آنزیم‌های عملکرد کبد، همچنین LDH سرم، در موش‌های دریافت‌کننده رژیم پرکلسترول و عصاره انیسون در مقایسه با موش‌های دریافت‌کننده رژیم غذایی پرکلسترول به‌طور معناداری کاهش یافت. این نتایج با یافته‌های قبلی که از عصاره گیاهی یکسان استفاده می‌کردند مطابقت دارد. در همین راستا، اسدالله‌پور و همکاران طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۷ انجام دادند اظهار کردند که سطوح آنزیم‌های ALT و ALT در اثر استفاده از گیاه انیسون در موش‌های آزمایشگاهی کاهش یافت که می‌تواند گزینه مناسبی برای درمان بیماری‌های التهابی کبد باشد (۱۳). در مطالعه دیگر که Ahmed S Hashem و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، با دادن عصاره گیاه انیسون به سوسک آرد قرمز گزارش کردند که این عصاره با آنزیم ALT و AST ترکیب می‌شود و موجب کاهش اثر این آنزیم‌ها در کبد می‌شود که از حیث تأثیر آنزیم‌های نامبرده بر کبد با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۹). در مطالعه‌ای که M.A farid و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره انیسون بر آسیب پانکراس ناشی از دیابت را بررسی کردند. آنها دریافتند که عصاره انیسون با کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو همچون MDA و افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و کاتالاز اثر آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان داد و از سلول‌های پانکراس در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت محافظت کرد (۲۰). در مطالعه‌ای که اکرم جمشیدزاده و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام دادند، اثر

در راستای اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی نتایج این بررسی با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره آبی-الکی انیسون موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی، همچنین کاهش میزان LDH به دنبال دریافت رژیم پرکلسترول می‌شود که این احتمالاً در کاهش عوارض بیماری‌ها و آسیب‌های التهابی کبدی می‌تواند سودمند باشد.

ملاحظات اخلاقی

: این پژوهش یک مطالعه تجربی و آزمایشگاهی از نوع مداخله‌ای همراه با گروه شاهد روی مدل‌های حیوانی است که در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی دانشگاه شاهد با کد مصوبه کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی به شماره IR.SHAHED.REC.1400.099 انجام شد.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

محافظت کبدی عصاره انیسون در برابر سمیت ناشی از Ccl4 را بررسی کردند. آنها دریافتند که انیسون با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود نشانگرهای استرس اکسیداتیو از کبد در برابر سمیت ناشی از Ccl4 محافظت کرد (۱۰). در مطالعه‌ای که محمد هاشم‌نیا و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام دادند اثر ترمیم زخم عصاره الکی انیسون در موش‌های دیابتی را بررسی کردند. نتیجه حاصله این بود که انیسون باعث کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و بهبود تعداد فیبروبلاست‌ها در مراحل اولیه و افزایش تعداد فیبروسیت‌ها در مراحل بعدی بهبود زخم شد. همچنین توانست با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و گلوتاتیون و نیز کاهش MDA اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قابل قبولی از خود نشان دهد (۲۱). در مطالعه‌ای که Zohra Ghilissi و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، اثر ضدالتهابی انیسون بر زخم‌های سوختگی لیزری را بررسی کردند. انیسون با انقباض زخم، مراحل اپیتلیزه‌شدن و بازسازی مجدد را پس از هفت روز درمان، تسریع کرد. نتایج نشان داد که عصاره انیسون یک منبع نویدبخش برای درمان طبیعی زخم و داروهای ضدالتهابی است. به نظر می‌رسد که منوساکاریدهای انیسون با محتوای بالا و متنوع مسئول فعالیت‌های بیولوژیکی مشاهده شده باشند (۲۲).

منابع

- Maretti-Mira AC, Salomon MP, Hsu AM, Kanel GC, Golden-Mason L. Hepatic damage caused by long-term high cholesterol intake induces a dysfunctional restorative macrophage population in experimental NASH. *Frontiers in Immunology*. 2022;13.
- Song Y, Liu J, Zhao K, Gao L, Zhao J. Cholesterol-induced toxicity: An integrated view of the role of cholesterol in multiple diseases. *Cell Metabolism*. 2021;33(10):1911-25.
- Kopin L, Lowenstein CJ. Dyslipidemia. *Annals of internal medicine*. 2017;167(11):ITC81-ITC96.
- Nunez DJ, Alexander M, Yerges-Armstrong L, Singh G, Byttebier G, Fabbrini E, et al. Factors influencing longitudinal changes of circulating liver enzyme concentrations in subjects randomized to placebo in four clinical trials. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2019;316(3):G372-G86.
- Cacciola I, Scoglio R, Alibrandi A, Squadrito G, Raimondo G. Evaluation of liver enzyme levels and identification of asymptomatic liver disease patients in primary care. *Internal and emergency medicine*. 2017;12:181-6.
- Alomar HA, Fathallah N, Abdel-Aziz MM, Ibrahim TA, Elkady WM. GC-MS Profiling, Anti-Helicobacter pylori, and Anti-Inflammatory Activities of Three Apiaceous Fruits' Essential Oils. *Plants*. 2022;11(19):2617.
- Es-Safi I, Mechchate H, Amaghnoije A, Elbouzidi A, Bouhrim M, Bencheikh N, et al. Assessment of antidepressant-like, anxiolytic effects and impact on memory of pimpinella anisum l. Total extract on swiss albino mice. *Plants*. 2021;10(8):1573.
- Fitsiou E, Mitropoulou G, Spyridopoulou K, Tiptiri-Kourpeti A, Vamvakias M, Bardouki H, et al. Phytochemical profile and evaluation of the biological activities of essential oils

- derived from the Greek aromatic plant species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita*. *Molecules*. 2016;21(8):1069.
9. Ghosh A, Saleh- e- In MM, Abukawsar MM, Ahsan MA, Rahim MM, Bhuiyan MNH, et al. Characterization of quality and pharmacological assessment of *Pimpinella anisum* L.(Anise) seeds cultivars. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019;13:2672-85.
 10. Jamshidzadeh A, Heidari R, Razmjou M, Karimi F, Moein MR, Farshad O, et al. An in vivo and in vitro investigation on hepatoprotective effects of *Pimpinella anisum* seed essential oil and extracts against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2015;18(2):205.
 11. Lavaee F, Moghaddas A, Modarresi F, Nowrouzi M. The Effect of *Pimpinella Anisum* and *Origanum Vulgare* Extracts Against *Streptococcus Sanguinis*, *Streptococcus Mutans*, and *Streptococcus Salivarius*. *Journal of Dentistry*. 2022;23(2):113-20.
 12. Bolouki E, Naderi G, Roghani M, Zahedi E. The effect of hydroalcoholic extract of *Ruta graveolens* on oxidative stress markers and cholinesterase in brain rats receiving high-cholesterol diet. *Daneshvar Medicine*. 2020;26(6):41-50.
 13. Asadollahpoor A, Abdollahi M, Rahimi R. *Pimpinella anisum* L. fruit: Chemical composition and effect on rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2017;22.
 14. Haddadzadeh Niri N, Khalili M, Taleahmad F, Joneidi E, Roghani M. The effect of diosgenin on mitochondrial health and neutrophil infiltration indices in methotrexate-induced liver damage in the rat. *Daneshvar Medicine*. 2022;30(3):62-71.
 15. Qian W, Hasegawa J, Cai X, Yang J, Ishihara Y, Ping B, et al. Components of boiogito suppress the progression of hypercholesterolemia and fatty liver induced by high-cholesterol diet in rats. *Yonago Acta medica*. 2016;59(1):67.
 16. Csonka C, Baranyai T, Tizslavicz L, Fébel H, Szűcs G, Varga ZV, et al. Isolated hypercholesterolemia leads to steatosis in the liver without affecting the pancreas. *Lipids in health and disease*. 2017;16(1):1-14.
 17. Abukhalil MH, Hussein OE, Bin-Jumah M, Saghir SA, Germoush MO, Elgebaly HA, et al. Farnesol attenuates oxidative stress and liver injury and modulates fatty acid synthase and acetyl-CoA carboxylase in high cholesterol-fed rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27:30118-32.
 18. Choi DJ, Kim SC, Park GE, Choi B-R, Lee DY, Lee Y-S, et al. Protective effect of a mixture of *Astragalus membranaceus* and *Lithospermum erythrorhizon* extract against hepatic steatosis in high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020;2020.
 19. Hashem AS, Ramadan MM, Abdel-Hady AA, Sut S, Maggi F, Dall' Acqua S. *Pimpinella anisum* essential oil nanoemulsion toxicity against *Tribolium castaneum*? Shedding light on its interactions with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase by molecular docking. *Molecules*. 2020;25(20):4841.
 20. Faried MA, El-Mehi AES. Aqueous anise extract alleviated the pancreatic changes in streptozotocin-induced diabetic rat model via modulation of hyperglycaemia, oxidative stress, apoptosis and autophagy: a biochemical, histological and immunohistochemical study. *Folia Morphologica (Warsz)*. 2020;79(3):489-502.
 21. Hashemnia M, Nikousefat Z, Mohammadalipour A, Zangeneh M-M, Zangeneh A. Wound healing activity of *Pimpinella anisum* methanolic extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Wound Care*. 2019;28(Sup10):S26-S36.
 22. Ghilisi Z, Kallel R, Krichen F, Hakim A, Zeghal K, Boudawara T, et al. Polysaccharide from *Pimpinella anisum* seeds: Structural characterization, anti-inflammatory and laser burn wound healing in mice. *International journal of biological macromolecules*. 2020;156:1530-8.